Strukturaufklärung neuer Terpenesteralkaloide aus Salacia brachypoda Peyr., Hippocrateaceae

Ok-Pyo Chi
aus
Pusan / Korea

März 1981

Strukturaufklärung neuer Terpenesteralkaloide aus Salacia brachypoda Peyr., Hippocrateaceae

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der

Fakultät Chemie und Pharmazie

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

von

Ok-Pyo Chi

aus

Pusan/Korea

März 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Unterstützung des Deutschen Akademischen
Austauschdienstes.

1. Berichterstatter: Professor Dr. H. W a g n e r

2. Berichterstatter: Professor Dr. H.D. S t a c h e l

Tag der mündlichen Prüfung: 27. Mai 1981

Druck und Verarbeitung: accord-blitz Offsetdruckerei München

Für meine Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545801_0052

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität München angefertigt.

Für die Hilfe, die mir bei der Durchführung der Arbeit zuteil wurde, möchte ich meinen aufrichtigen Dank aussprechen.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. H. Wagner, danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für deren großzügige Unterstützung.

Dem D A A D danke ich für das Doktoranden-Stipendium, meinen Kolleginnen und Kollegen am Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität München für die unvergeßliche Freundschaft und den vielen im einzelnen nicht genannten Kollegen für spektroskopische Messungen.

Für die Gastfreundschaft in der Bundesrepublik Deutschland möchte ich mich schließlich herzlichst bedanken.

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

EINLEITUNG 1

ALLGEMEINER TEIL 2

1.0 Vorkommen und botanische Beschreibung der Droge . . . 2

1.1 Pharmakologie und Verwendung in der Volksmedizin . . 5

1.2 Bisher bekannte Pflanzeninhaltsstoffe von Salacia-Arten 6

2.0 Phytochemische Untersuchung des Samens von Salacia brachypoda 7

2.1 Alkaloidscreening 7

2.2 Isolierung der Alkaloide von Salacia brachypoda . . . 9

3.0 Strukturaufklärungen der isolierten Verbindungen . . 12

3.1 Salacinin A 12

3.2 Salacinin B 46

3.3 Salacinin C 52

3.4 Salacinin T 57

4.0 Hydrolysierter Abbau von Rohalkaloid I 63

5.0 Synthese der Salacininsäure 68

6.0 Zur Pharmakologie des Rohalkaloids 74

7.0 Zur Chemotaxanomie von Salacia brachypoda 74

9.0 Zusammenfassung 75

EXPERIMENTELLER TEIL 77

9.0 Herkunft der Drogen 77

10.0 Allgemeine Arbeitsmethoden 77

10.1 Fällungsreagenzien für Alkaloide 77

10.2 Dünnschichtchromatographie 78

10.3 Alkaloidscreening 79

10.4 Präparative Dünnschichtchromatographie 81

10.5 Säulenchromatographie 81

10.6 Gaschromatographie 81

10.7 Auskristallisation nach dem System der Isothermen-Destillation 82

10.8 Physikalisch-chemische Untersuchungen 82

Seite

11.0 Isolierungen 83
11.1 Isolierung des Rohalkaloidgemisches 83
11.2 Säulenchromatographie des Rohalkaloidgemisches . . . 83
11.3 Feintrennung des Alkaloides 84
12.0 Partielle Hydrolyse, Isolierung des Salacinols und der Salacininsäure 85
13.0 Synthese des α-(4-Pyridyl)-isobuttersäuremethylesters 88
13.1 Darstellung des α-(4-Pyridyl)-isopropanols 88
13.2 Darstellung des α-(4-Pyridyl)-isopropylchlorids . . 88
13.3 Darstellung des α-(4-Pyridyl)-isobuttersäuremethylesters 89
14.0 Physikalische Daten isolierter Verbindungen 90
14.1 Salacinin A 90
14.2 Salacinin B 91
14.3 Salacinin C 92
14.4 Salacinin T 93
14.5 Pentaacetylsalacinol 94
14.6 Salacininsäure-Methylester 94
L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S 95

EINLEITUNG

Innerhalb der Celastraceen- bzw. Hippocrateaceen-Familie nehmen die Salacia-Arten eine chemotaxonomisch noch wenig geklärte Stellung ein. Durch eine chemische Bearbeitung von Salacia brachypoda Peyr., einer in Brasilien vorkommenden Art, sollte vor allem untersucht werden, ob die für die Celastraceen-Familie typischen Terpenesteralkaloide auch in der bisher als eigene Familie geführten Hippocrateaceen-Familie vorkommen.

Nachdem orientierend phytochemische Untersuchungen die Anwesenheit dieser Stoffklasse wahrscheinlich gemacht hatten, sollten in der vorliegenden Arbeit die Hauptverbindungen isoliert und chemisch aufgeklärt werden.

ALLGEMEINER TEIL

1.0 Vorkommen und botanische Beschreibung der Droge

Die Gattung Salacia (= Tontelea), die etwa 190 Arten umfaßt, ist hauptsächlich im tropischen Amerika, im tropischen Afrika, weniger im tropischen und subtropischen Asien, verbreitet. Eine Art (Salacia prinoides) kommt im tropischen Teil Australiens vor [1,8].

Der Gattungsname findet sich in der römischen Mythologie als Name einer der Frauen des Meeresgottes Neptun. Die Gattung Salacia wird von PEYRITSCH [2,3] und anderen Botanikern [3,4] zusammen mit 16 anderen Gattungen zur Familie der "Hippocrateaceae" gerechnet. Diese ist nahe verwandt mit der Familie der Celastraceae.

Ein Unterschied zwischen beiden Familien ist das für Salacia-Arten charakteristische kongentielle Andrözeum. Nach LOESNER [1] ist dieses Andrözeum meistens trimer.

DING HOU [5] hat aus phytochemischen Gründen z.B. wegen des Vorkommens von Dulcit, Gutta und Pristimerin vorgeschlagen, die Familie der Hippocrateaceae mit der Celastraceen-Familie zu vereinigen.

Salacia brachypoda (Miers) Peyr. [2] besitzt zumeist alternierend, seltener gegenseitig stehende Blätter und gehört zu den Lianengewächsen.

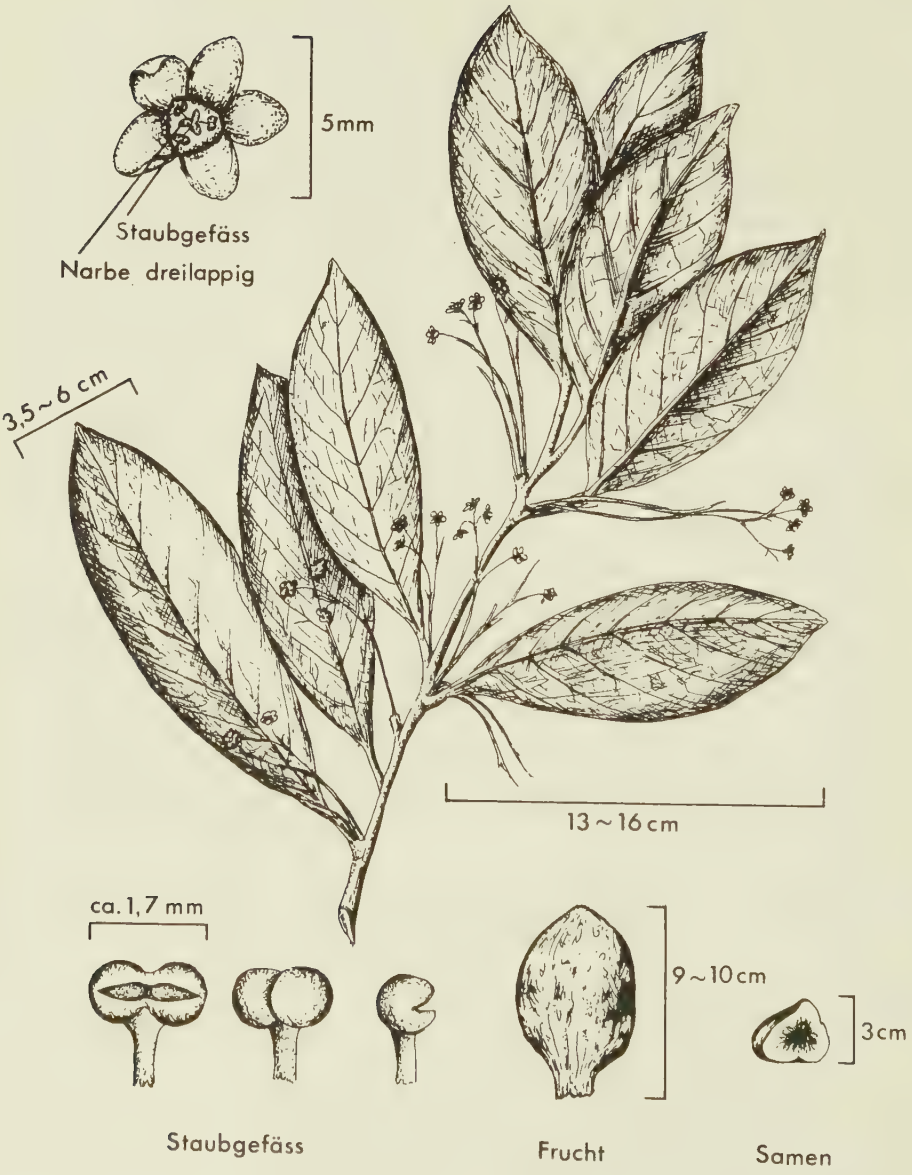
Die getrockneten Blätter sind dunkelgrün bzw. -braun, schmal-elliptisch oder lanzettlich elliptisch geformt, 13 - 16 cm lang und 3.5 - 6 cm breit.

Die Blüten besitzen fünf 0.4 - 1 mm lange, 0.9 - 1.2 mm breite Sepalen (selten 6), fünf 1.7 - 3.5 mm lange, 1.2 - 2.6 mm breite Petalen (selten 6) und drei Staubgefäße.

Die Narbe ist meistens dreilappig. In der Frucht, die äußerlich wie eine Birne aussieht (Abb. 1, S. 4), finden sich innerhalb des dickfleischigen Exocarps 8 - 12 cm große, durch den gegenseitigen Druck von der ursprünglichen ovalen Gestalt etwas abweichend geformte Samen.

Die Samen sind durch eine dünne, dunkle, harte Schicht von der Samenschale abgegrenzt.

Eine genaue botanische Beschreibung der Frucht bzw. der Samen von Salacia brachypoda fehlt in der gesamten Literatur. Es gibt nur bei LOESNER [1] eine vage Beschreibung für Clercia lanceolata, die von PEYRITSCH [2,4] als Synonym bzw. mit S. brachypoda als identisch bezeichnet wird. Von MARS und RIZZINI [7] stammt die nachfolgende Abbildung von Frucht und Samen (s.Abb. 1, S. 4).



Salacia brachypoda Peyer. (Castanha mineria)

Abb. 1

1.1 Pharmakologie und Verwendung in der Volksmedizin

Die Samen von Salacia brachypoda wurden in Brasilia unter dem portugiesischen Namen "Castanha mineria" als Digestiv- und Abführtee benutzt [7,8].

ZELNIK und Mitarb. [9] untersuchten einen Extrakt von S.brachypoda auf Antitumoraktivität. Die verwendeten Krebsmodelle waren: L-1210 Lymphkrebs, P-388 Leukämie und Engle's 9 KB Humanepidermoides Nasopharynxcarcinum. Eine Überprüfung dieser Ergebnisse am eigenen Institut führte zu dem gleichen Resultat. Die Untersuchungen verliefen negativ.

Die Verwendung anderer Salacia-Arten in der Volksmedizin ist in der Tabelle 1 aufgelistet.

Tabelle 1: In der Volksmedizin verwendete Salacia-Arten

Pflanzen	Verwendung	Verwendeter Pflanzenteil	Ort	Lit.
S.fluminensis Peyr.	Digestiv	Samen	Brasilien	10
S.krausii Harv.	Epilepsie, Bandwurmbefall	Wurzelrinde	Afrika	12
S.senegalensis (Lam.) D.C.	Malaria, Wundheilung	Wurzelrinde	Afrika	13
S.oblonga Wall.	Gonorrhoe, Rheumatismus, Asthma, Hautkrankheiten	Wurzelringe	Westindische Inseln	14, 15
S.reticulata Wight	ibid.	Wurzelringe	Westindische Inseln	14, 15
S.prinoides D.C.	Diabetes	Wurzelrinde	Indien	17,19, 21,23
S.chinensis L.	Diabetes	Rinde	Indien	15
S.macrosperma Welw. ex Oliv.	Malaria, Wundheilung	Wurzel	Indien	28

1.2 Bisher bekannte Pflanzeninhaltsstoffe von Salacia-Arten

Aus Salacia-Arten wurden bis heute das Xanthon-C-glucosid Mangiferin, ferner Pristimerin, Friedelan-Derivate und Anthocyanidin-Derivate isoliert. DE G.PAULA [16] berichtete über ein Alkaloid, Salacin (Smp. 155 - 157°C), aus S.brachypoda ohne weitere Angaben zur Struktur.

Alle bisher isolierten Verbindungen sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2:

Pflanzen	Substanzen	Lit.
S.brachypoda Peyr.	Salacin	16
S.prenoides D.C.	1-Friedelan-3-on, Friedelin, Friedelan-1,3-dion-7-ol, Friedelan-1,3-dion-4-ol, Friedel-1-en-3-on, Friedel-1,3-dion, 1,3-Dioxo-Friedelan-24-al, 7α-OH-Friedelan-1,3-dion	19,15 16 21-26
S.chinensis L.	Proanthcyanidine, Dulcitol	16-27
S.macrosperma Welw. ex Oliv.	Saptarangi-quinone A,B,C, Pristimerin, Tingenon, Hydroxytingenon, Salaciaquinonmethid	26,29
S.fruticosa	Friedelin, α-Amyrin, Sitosterol, Friedelan-3-on-29-ol	28
S.crassifolia G.Don	Pristimerin	29

2.0 Phytochemische Untersuchung des Samens von Salacia brachypoda

2.1 Alkaloidscreening

Gepulverter Samen wurde mit wenig ammoniakalischem Ethanol mazeriert und nach dem Trocknen der Droge mit Petroläther extrahiert.

Der filtrierte Petrolätherextrakt wurde mit 1N-Salzsäure-Lösung ausgeschüttelt und eine Probe der sauren Lösung mit Valsers- bzw. Mayers-Reagenz versetzt.

Da wir eine deutliche weiße Trübung erhielten, war mit der Anwesenheit geringer Alkaloidmengen zu rechnen. Der gesamte 1N-HCl-Extrakt wurde anschließend mit gesättigter Na_2CO_3-Lösung leicht alkalisiert, anschließend mit Diäthyläther ausgeschüttelt, die ätherische Phase im Vakuum bis zur Trockene eingeengt und nach Aufnahme in wenig Methanol zur DC-Untersuchung auf einer 0.25 mm DC GF_{254} (Merck)-Platte verwendet.

Im Laufmittelsystem Cyclohexan-Chloroform-Diäthylamin (5:4:1) erhielten wir nach Detektion mit Dragendorff-Reagenz nach MUNIER [30] das Fleckenmuster von Abb. 2, S. 8. Demnach müßten in dem Extrakt mindestens acht Alkaloide enthalten sein.

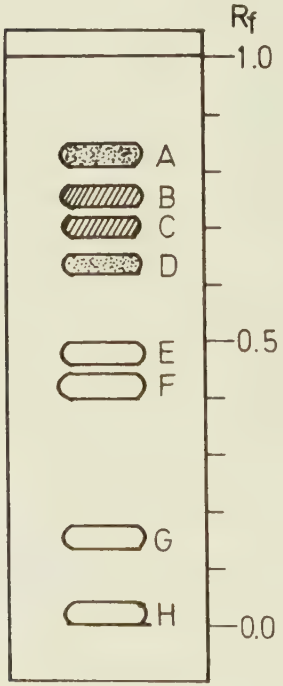
Der Drogenrückstand der Petrolätherextraktion wurde anschliessend weiter mit Diäthyläther, Dichlormethan und Ethanol auf oben beschriebene Weise extrahiert. Die mit Valsers- und Mayers-Reagenz erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 3, S. 8, angegeben.

Parallel zu den Samen wurden zum Vergleich auch Rinde, Mark und Blätter der Droge mituntersucht. Wie aus der Tabelle ersichtlich, enthalten praktisch nur die Äther- und Äthanol-Auszüge Alkaloide. Während auch Rinde und Markgewebe Alkaloide enthalten, sind die Blätter alkaloidfrei.

Tabelle 3: Alkaloidscreening in verschiedenen Drogenextrakten

Drogenteil	Petroläther	Äther	Dichlormethan	Ethanol
Samen	++	++	-	+
Rinde	-	++	-	+
Markgewebe	-	++	-	+
Blätter	-	-	-	-

Erläuterung: ++ = deutlich positiv mit Valsers Reagenz
+ = schwach positiv
- = negativ



1. Kieselgel-GF_{254} 0.25 mm (Merck)
2. Sprühreagens:
   Dragendorff-Reagenz nach MUNIER (30)
3. Laufmittel:
   Cyclohexan-Chloroform-Diäthylamin (5:4:1)

Abb. 2

DC der Ätherausschüttelung
B, C = starke Orangefärbung
A, D = schwache Orangefärbung
F,G,H = nach 15 min schwache Orangefärbung

2.2 Isolierung der Alkaloide von Salacia brachypoda

Die Droge wurde nach dem in folgendem Schema gezeigten Isolierungsgang aufgearbeitet. Nach Petroläther- und Hexan-Extraktion wurden die Alkaloide durch Ausschütteln der Hexan-Lösung mit 1N-Salzsäure, Alkalisierung mit Na_2CO_3-Lösung und Extraktion mit Äther abgetrennt.

Das aus Äther erhaltene Rohalkaloidgemisch (I) lieferte bei der Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel-Merck im Laufmittelsystem Dichlormethan-Äthylacetat-Äthanol (66:44:5) und nach Anfärbung mit Dragendorff's-Reagenz nach RUBIA und GOMEZ [79] im mittleren R_f-Bereich (R_f 0.32 - 0.47) vier stark hervortretende Flecken (D1 - D4). Vier weitere Zonen (C1 - C4) geringerer Konzentration erschienen im R_f-Bereich (0.52 - 0.66). Zonen im niedrigen und oberen R_f-Bereich (0.02 - 0.14 und 0.83 - 0.91) weisen einige Dragendorff-Reagenz negative Flecken auf (E, F, G und A, B (siehe Isolierungs-Schema S. 11)).

Die präparative Auftrennung der Hauptverbindungen gelang zum Teil durch konventionelle Kieselgelchromatographie und eine anschließende zweite von HUNT und RIGBY [31] modifizierte Säulenchromatographie, wobei feines Kieselgel für präparative DC als Packungsmittel verwendet wurde.

Bei der ersten Säulenchromatographie erhielten wir ein Gemisch aus den Verbindungen D3 und D4. Weitere Auftrennung im System Isopropyläther ges. mit NH_3-Dichlormethan-Ethanol (70:28:2) lieferte insgesamt neun Zonen (G1 - G9). Von diesen konnten G6 und G9 im ersten Säulendurchgang rein isoliert werden.

Die Hauptverbindung G5 ließ sich im System Isopropyläther ges. mit NH_3-Dichlormethan-Dimethylenglykolmonomethyläther (70:28:2) nochmals in vier Zonen (S1 - S4) auftrennen. Aus diesem Gemisch gelang es die Verbindungen S2 und S3 im System Isopropyläther ges. mit NH_3-Dichlormethan-Ethanol (70:25:5) rein darzustellen.

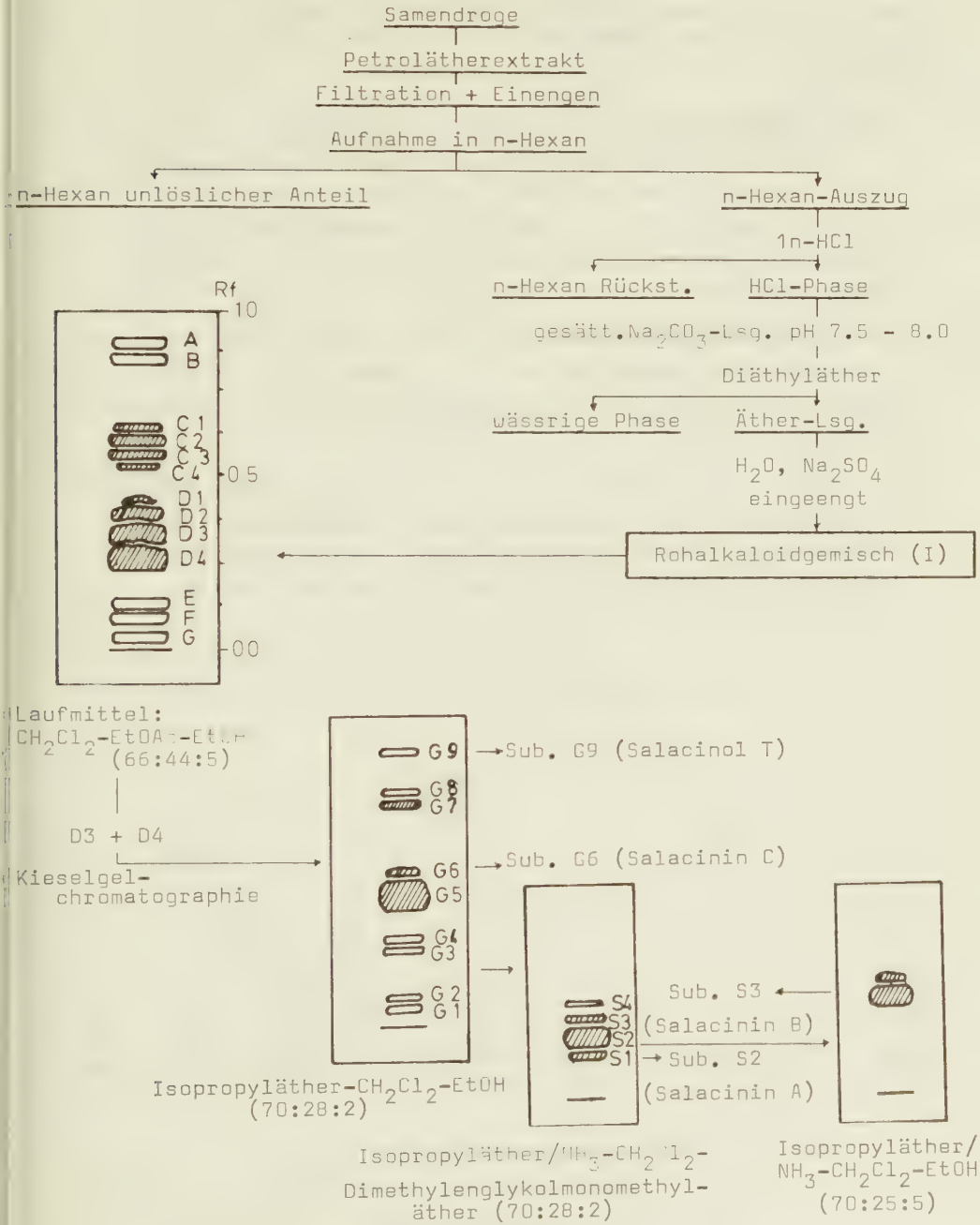
Insgesamt konnten aus 3 kg Droge durch konventionelle Säulenchromatographie und präparative Dünnschichtchromatographie folgende vier Verbindungen erhalten werden.

Für die Strukturaufklärung wurde noch zweimal isoliert:

aus 3 kg Droge

Salacinol T	(= G 9)	11 mg,	Smp. = 215 - 216°C
Salacinin A	(= S 2)	30 mg,	Smp. = 92 - 95°C
Salacinin B	(= S 3)	9 mg,	Smp. = 105 - 107°C
Salacinin C	(= G 6)	7 mg,	Smp. = 230 - 231°C

Isolierungsschema



3.0 Strukturaufklärungen der isolierten Verbindungen

3.1 Salacinin A

3.1.1 Das UV-Spektrum wies ein Hauptmaximum bei 227 nm (ε = 13165) und ein zweites von geringerer Intensität bei 251 nm auf. Auffallend war eine schon bei früher isolierten Terpenalkaloiden beobachtete Feinstruktur der langwelligen Bande mit Maxima bei 258 (ε = 530), 264 (ε = 619), 270 (ε = 663) und 281 (ε = 663 nm).

Lage und Intensitätsverteilung dieser Banden ließen auf das Vorliegen eines Benzolderivates schließen. Speziell die Banden bei 270 bis 281 nm sprachen für einen zweiten aromatischen Chromophor.

Da Salacinin A Stickstoff enthielt, war anzunehmen, daß ein Pyridin-Ring-System vorlag. Nach den Untersuchungen von ACHESON und TYLOR [104] sind $\pi \rightarrow \pi^*$ Übergänge in diesem Wellenbereich für Pyridincarbonsäuren charakteristisch.

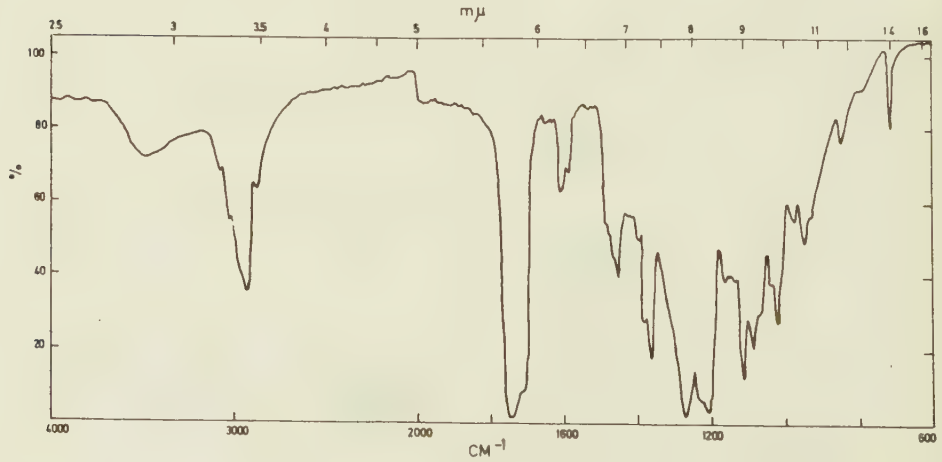


Abb. 3
IR-Spektrum von Salacinin A

3.1.2 Dem IR-Spektrum zufolge mußten OH-Gruppen mit intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen vorliegen (breite Bande bei 3450 cm^{-1}). Die auffallend starken Banden bei 1745, 1720 und 1220 cm^{-1} stammten von C=O- bzw. -C-O-Schwingungen. Derartige Intensitäten sind für Polyester-Strukturen charakteristisch.

"Out-of-plane"-Schwingungen traten bei 845, 750 und 690 cm^{-1} auf. Die Banden bei 1390 und 1360 cm^{-1} sprachen für das Vorliegen einer Isopropyl-Gruppe. Banden bei 750 und 690 cm^{-1} deuteten auf einen monosubstituierten Benzolring hin (Abb. 3, S. 12).

3.1.3 Das hochaufgelöste Massenspektrum von Salacinin A ergab ein Molekulargewicht von 637.295 und die Summenformel $C_{35}H_{43}O_{10}N$.

Die im Massenspektrum beobachteten Abspaltungen von Molekulion waren typisch für eine Polyester-Struktur. Die Fragmentierungen M^+ - 42 bzw. M^+ - 60 Maßeinheiten deuteten auf das Vorliegen von Essigsäureester hin ($CH_2=C=O$, CH_3COOH), während M^+ - 105 und M^+ - 121 Masseneinheiten von der Abspaltung einer Benzoesäure ($C_6H_5C = O^+$, C_6H_5COO) stammen mußten.

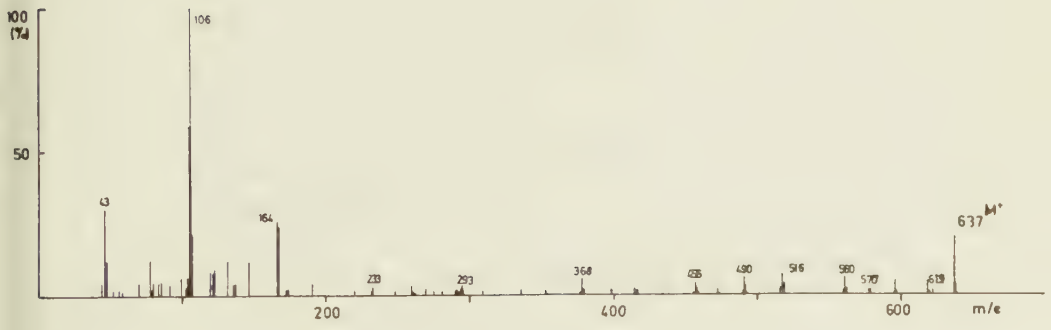


Abb. 4
MS-Spektrum von Salacinin A

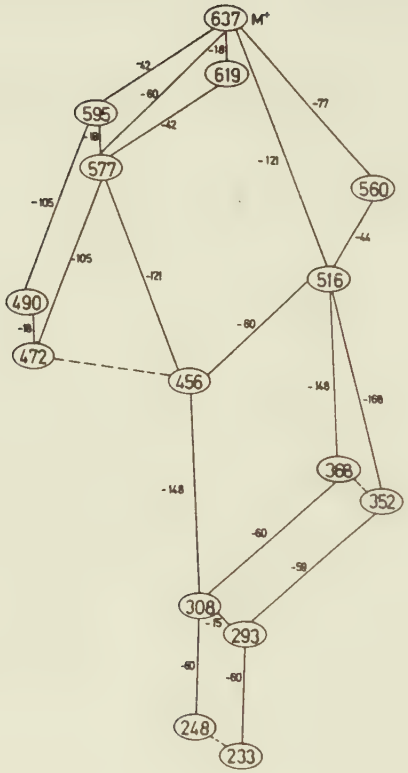


Abb. 5
Zerfallsschema von Salacinin A

Ein bei M^+ - 18 erscheinender Peak wies auf eine freie Hydroxyl-Gruppe hin. Weitere Bruchstücke (516 bzw. 456 Masseneinheiten, 148 bzw. 164 Massendifferenz) sprachen nach der Strukturaufklärung für ein Pyridin-Carbonsäure-Derivat von vorerst noch unbekannter Struktur.

Im unteren Massen-Bereich wurden Zerfallsbruchstücke eines Sesquiterpengerüstes sichtbar. Eine ähnliche Fragmentierung besitzt das Malkanguniol [33], ein Sesquiterpentetraol aus Celastrus paniculatus.

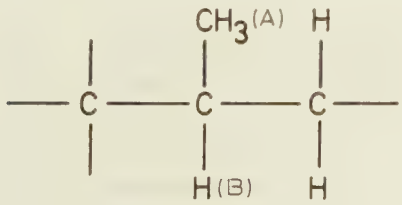
Der Unterschied im Fragmentierungsmuster von Salacinin A zu dem von Malkanguniol ist vermutlich auf eine andere Zahl und Stellung von Substituenten zurückzuführen. Malkanguniol hat eine 1,8,9,15-Tetrahydroxy-Agarofuran-Struktur, während Salacinin A, wie später ermittelt wurde, ein 1,2,6,8,15-Pentaol-Struktur besitzt. Die Rationalisierung des Massen-Spektrums gelang nach Kenntnis aller anderen spektroskopischen Daten.

5.1.4 In dem 400 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum mußte das Salacinin A-Molekül nach der Summenformel mindestens 43 Protonen enthalten. Die Integration ergab 27 Protonen für den Bereich δ = 0 - 3 ppm, 7 Protonen für den Bereich δ = 4 - 6 ppm und 9 Protonen für δ = 7 - 9 ppm (Abb. 6, S. 16).

Aus Doppelresonanzexperimenten (Abb. 7, S. 21) ließen sich folgende Teilstrukturen ableiten:

1. Das Dublett bei δ = 0.9 ppm (Signal-a) stammte von einer Methylgruppe(-A), die mit einem benachbarten Wasserstoff (-B) koppelt. Durch Entkopplungsexperiment konnte das bei δ = 2.18 ppm auftretende Multiplett als Signal-b dieses benachbarten Wasserstoffatomes bestätigt werden.

   Die Multiplettaufspaltung ließ gleichzeitig erkennen, daß neben diesem Proton noch eine weitere Methin- oder Methylen-Gruppe vorhanden sein mußte. Daraus ergab sich Teilstruktur I.



I

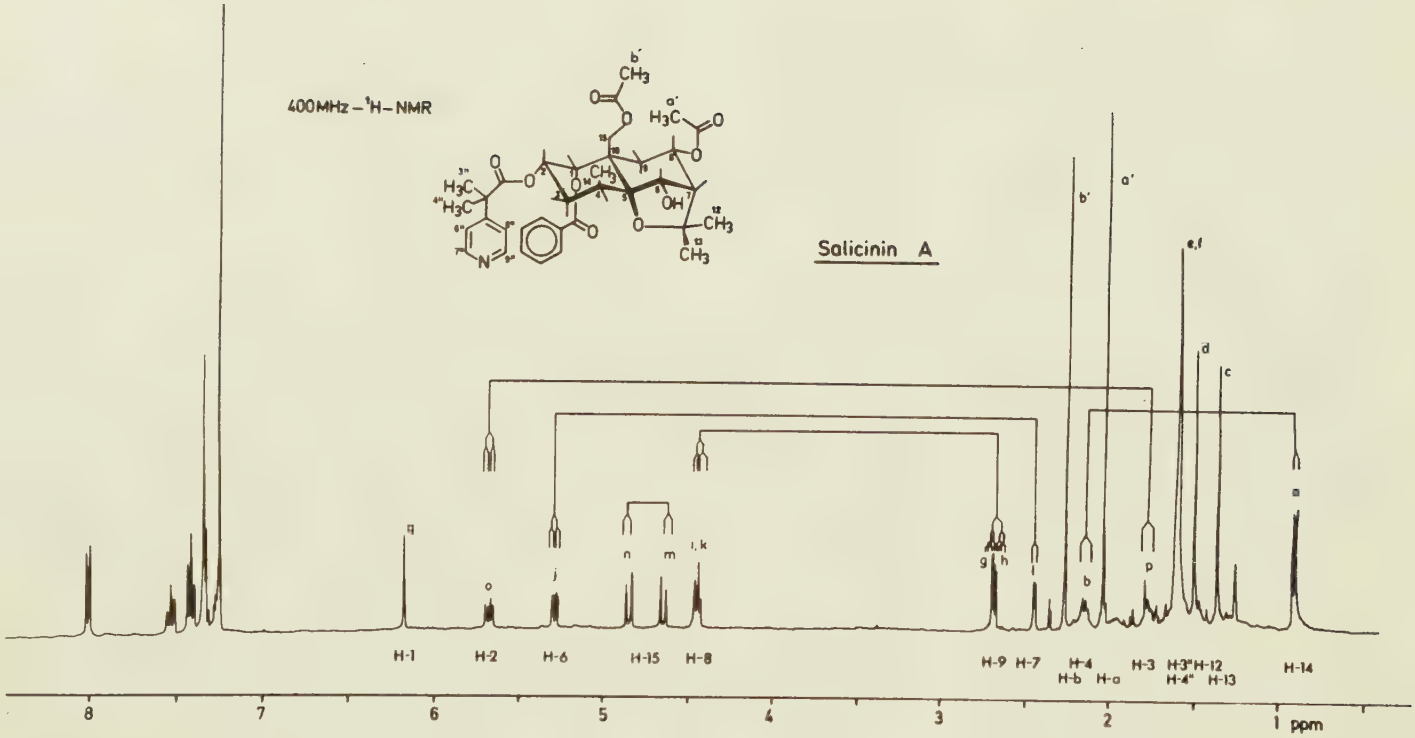
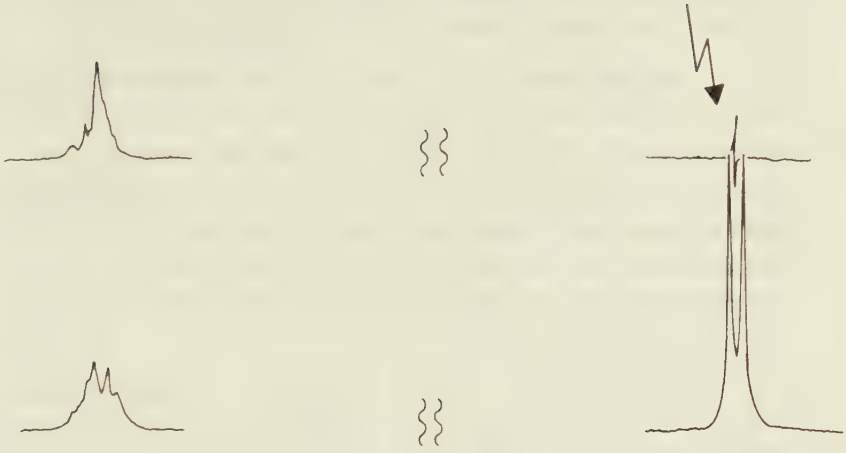


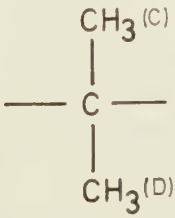
Abb. 6

400 MHz ^{1}H-Spektrum von Salacinin A



2. Drei weitere Methylsignale -c, -d, -e und -f traten bei δ = 1.37 (c), 1.49 (d) und 1.59 ppm (e und f) auf. Das letzte Signal bei δ = 1.59 ppm integrierte für zwei Methyl-Gruppen. Die paramagnetische Verschiebung dieser Methyl-Signale wies auf einen induktiven Effekt durch benachbarte elektronegative Gruppen hin.

   Ferner mußten zwei dieser Methyl-Gruppen (C und D) unterschiedliche magnetische Umgebungen haben, während die übrigen zwei Methyl-Gruppen (E und F) gleiche magnetische Anisotropie erkennen ließen [35]. Damit wäre die Teilstruktur II in Einklang.



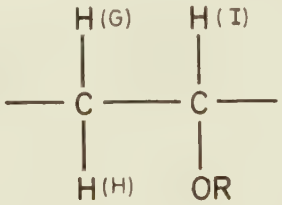
II

3. Die bei δ = 2.03 (Signal-a) und 2.25 ppm (Signal-b) erscheinenden zwei Singulette ließen sich als Methyl-Signale von Acetoxygruppen interpretieren.

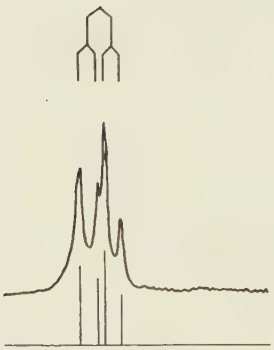
4. Bei einem Multiplett bei δ = 2.69 ppm (Signal-g,h) handelte es sich um ein Oktett, das wie die Anordnung IV zeigt, von dem AB-Teil eines ABX-Systems stammt.

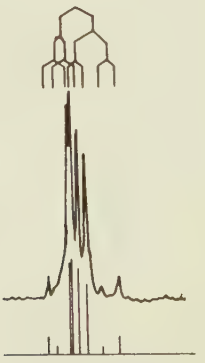
   Durch Einstrahlung bei δ = 4.45 ppm (Signal-i,k) vereinfachte sich das Oktett zu einem Dublett-Dublett eines AB-Systems. Dagegen blieb das Doppel-Dublett (Signal-i,k) durch Einstrahlung bei Signal-g,h ein vereinfachtes Multiplett (Abb. 7, S. 21).

   Das das Signal-i,k für zwei Protonen integrierte, war anzunehmen, daß sich darunter noch ein weiteres Proton (K) verbarg. Damit konnte auf Grund der im ABX-System auftretenden Signale g,h und Signal i die Teilstruktur III abgeleitet werden.



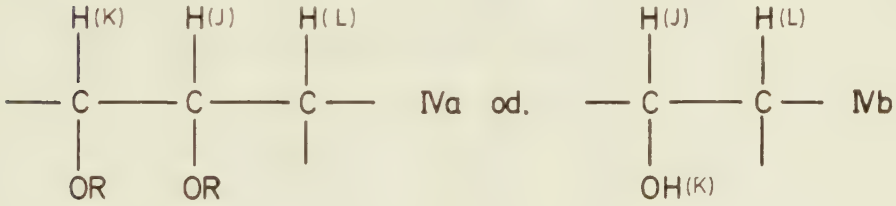
III



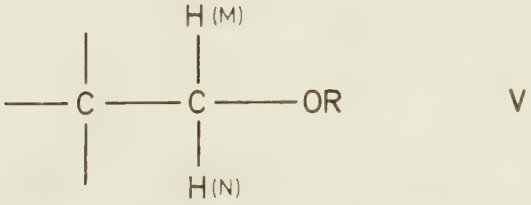


5. Einstrahlung bei Signal-i,k führte auch zu einer Änderung von Signal-j (1H, dd, δ = 5.29 ppm), das mit dem Dublett von Signal-l (1H, δ = 2.45 ppm) koppelte.

   Das bedeutet, daß das Proton J sowohl einem Proton K als auch L benachbart sein mußte. Die chemische Verschiebung des Signals für das L-Proton zeigte β-Effekt von O-Acylgruppen. Daraus war die Teilstruktur IV-a ableitbar. Nach einer Schlußfolgerung von der gesamten Strukturaufklärung für Salacinin A wäre auch eine Teilstruktur IVb für die Zuordnung der J-, K- und L-Protonen denkbar.

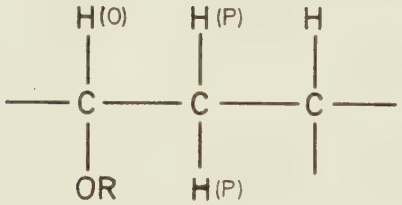


6. Die Dublette-m (δ = 4.65 ppm) und -n (δ = 4.85 ppm) koppeln, wie ein Doppelresonanzexperiment bestätigte, miteinander. Es entspricht einem typischen AB-System. Aus ihren chemischen Verschiebungen konnten die folgenden Teilstrukturen V abgeleitet werden.



7. Durch Einstrahlung im Zentrum des Doppel-Dubletts bei δ = 5.68 ppm (Signal-o, 1H) veränderte sich die Gestalt des Multipletts bei δ = 1.75 ppm (Signal-p, 2H).

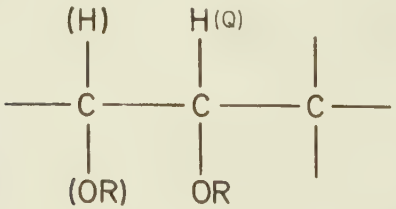
   In der sich hieraus ergebenden Teilstruktur sollte eine Methin-Gruppe einer Methylen-Gruppe benachbart sein. Das Multiplett (Signal-p) dieser Methylen-Gruppe mußte außerdem mit noch einigen weiteren Protonen gekoppelt sein. Folgende Teilstruktur-VI ergäbe sich daraus.



VI

8. Das Singulett bei δ = 6.18 ppm (Signal-q) sollte von einem Proton stammen, das in einer stärker elektronegativen Umgebung lag. Im Doppelresonanzexperiment zeigte dieses Signal keinen Einfluß auf andere Signale.

   Dies bedeutete, daß in seiner Nachbarschaft entweder kein weiteres Proton lag oder ein Proton, das auf Grund seiner besonderen sterischen Lage keine nennenswerte Kopplung ergab. Somit konnte die Teilstruktur-VII geschrieben werden.



VII

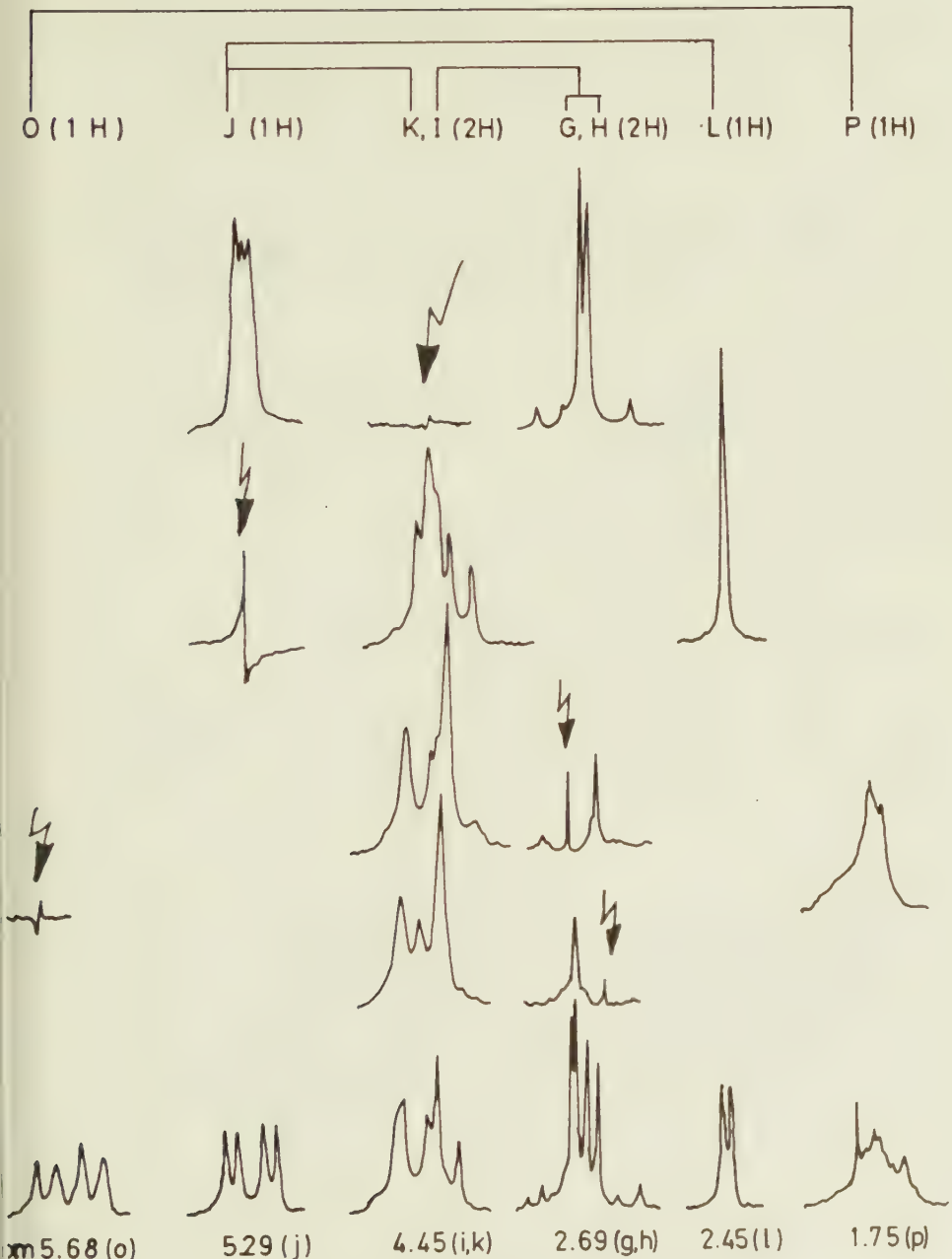


Abb. 7 : Doppelresonanzexperimente von Salacinin A

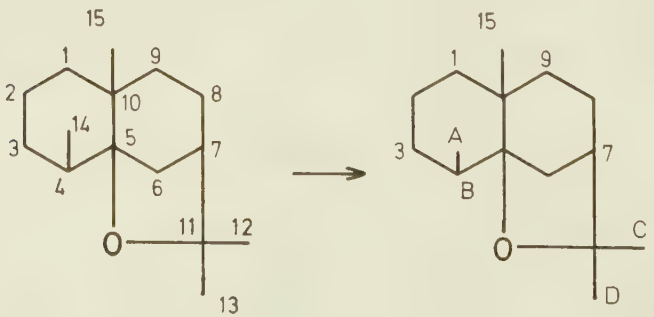
Wie die Teilstrukturen I, II und V erkennen lassen, enthält Salacinin A mindestens drei quaternäre Kohlenstoff-Atome. Dies ist nur möglich, wenn diese in ein tricyclisches System eingebaut sind.

Weiterhin wiesen die unterschiedlich paramagnetisch verschobenen zwei Methylsignale der Teilstruktur II darauf hin, daß sie mit einem Sauerstoff-Heterocyclus antiperiplanar gebunden sein mußten. Dies wäre typisch für die mit einem im Dihydroagarofuran gebundenen Methylgruppen.

Auf Grund dieser Hinweise konnte die Struktur des für zahlreiche Terpenoid-Verbindungen der Celastraceen-Familie charakteristischen Dihydroagarofurans auch als Grundstruktur für Salacinin A angenommen werden.

Damit ergaben sich gleichzeitig folgende weitere Informationen über die Substitution und die Gesamtstruktur:

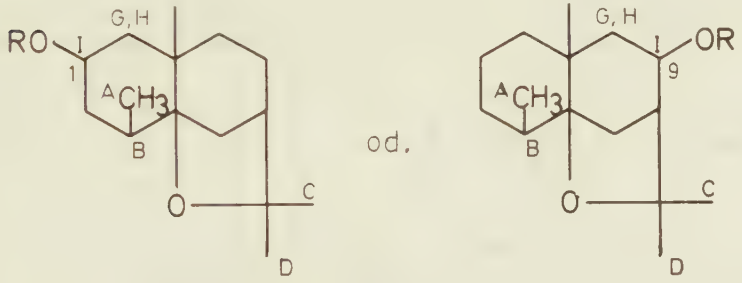
1. Die drei Methylgruppen aus den Teilstrukturen I und II konnten nunmehr eindeutig zugeordnet werden:
   Die Methylgruppe A (δ = 0.90 ppm) der Teilstruktur I muß die Position C-14 einnehmen. Das Proton B (δ = 2.18 ppm) und zwei Methylgruppen (C und D; δ = 1.37 und 1.49 ppm) der Teilstruktur II erhalten dadurch die Positionen C-4, C-12 und C-13.



VIII IX

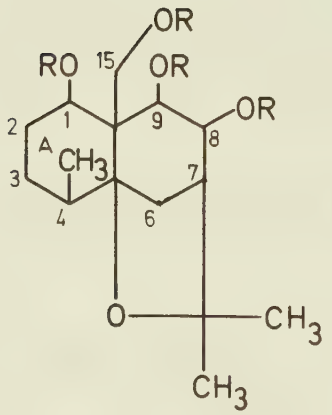
2. Für die aus einem ABX-System stammenden G- und H-Protonen der Teilstruktur III kommen als Position nur C-1 oder C-9 in Frage, da aus der Lage und der Feinstruktur des Methylen-Signals (G und H; δ = 2.69 ppm) anzunehmen war, daß die Methylengruppe einem quaternären Kohlenstoff-Atom benachbart ist.

   Damit muß das Proton von Signal-i und -k (δ = 4.45 ppm) die C-2- oder C-8-Position einnehmen. Daraus ergeben sich die Strukturvorschläge X oder XI.



X XI

Die meisten der bisher aufgeklärten Verbindungen vom Typ der Polyester-Sesquiterpene zeigen nicht das typische ABX-System, wie sie die Teilstruktur III von Salacinin A aufweist. BAXTER und Mitarb. (49) fanden jedoch im Cathedulin E2 und E8 zwei Dublette (δ = 2.20 und 2.64 ppm) für eine Methylengruppe am C-6 und ein Doppel-Dublett (δ = 2.49 ppm) für eine Methingruppe am C-7, obwohl ihre Strukturvorschläge ebenfalls den AB-Teil eines ABM-Systems erwarten ließen.



H - 6^1 ; δ = 2.20 ppm (d)

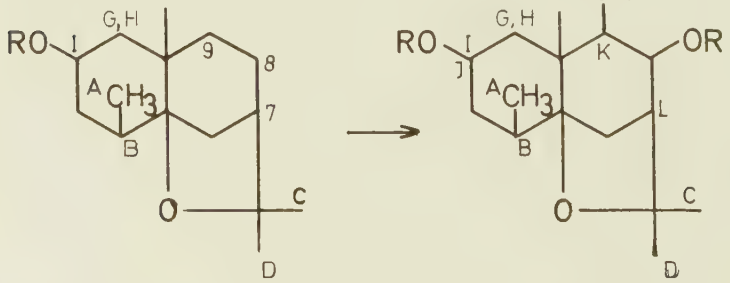
H - 6^2 ; δ = 2.64 ppm (d)

H - 7 ; δ = 2.49 ppm (dd)

Cathedulin E 2 und E 8

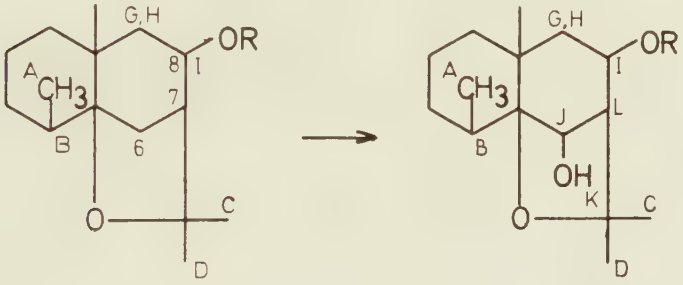
3. Das Signal für das Proton L an der nicht O-acylierten Methingruppe von den Teilstrukturen IVa und IVb kann nur die Position C-7 einnehmen, da es neben dem C-4-Proton und den O-acylierten CH-Gruppen das einzige Methin-Proton ist.

   Wenn man von dem ursprünglichen Strukturvorschlag von -X ausgeht, würde das J-Proton (δ = 5.29 ppm) zu C-8 und das K-Proton (δ = 4.45 ppm) zu C-9 gehören. Daraus ergäbe sich dann die Struktur XII.



X XII

Geht man dagegen von der Struktur-XI aus, so erhält das J-Proton die Position C-6, während das K-Proton das Hydroxyl-Proton an C-6 ergibt. Bei dieser Zuordnung ergäbe sich Struktur-XIII.



XI XIII

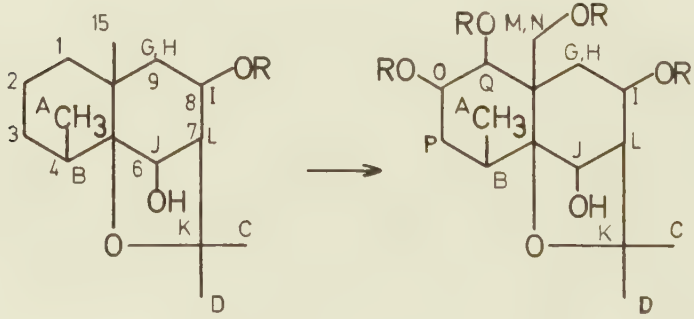
Eine HO-CH-Kopplung, wie zwischen dem Proton am C-6-Kohlenstoffatom und der OH-Gruppe in C-6-Position von Salacinin A wurde auch von HIRATA und Mitarb. [101] zwischen den C-14-Methylprotonen und dem Hydroxyl-Proton von Isoeuonymiol-octaacetat [+] beobachtet.

Während diese Fernkopplung, CH_3-C-O-H, durch ein Doppelresonanzexperiment von ihm bestätigt werden konnte, war beim Neoevonin [++] eine H-O-C-H-Kopplung zwischen dem Methin- und Hydroxyl-Proton am C-6 nicht zu finden. Da in dem Neoevonin das Signal von C-6 praktisch mit dem Signal von C-2 bei δ = 5.34 ppm zusammenfällt, war es schwer auszumachen.

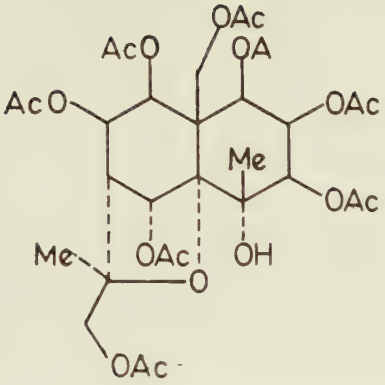
4. Die als AB-System erscheinenden Signale (dd, δ = 4.65 und 4.85 ppm) der Teilstruktur V zeigten eine typische geminale Kopplungskonstante von J = 12.0 Hz. Demzufolge würde die quaternäre O-acylierte Methylengruppe (M- und N-Protonen) der Teilstruktur V zu dem C-15 gehören.

5. Während die Struktur XII mit den Teilstrukturen VI und VII schwer in Einklang zu bringen war, läßt sich die Struktur XIII zwanglos aus den Teilstrukturen VI und VII zur Struktur XIV ableiten.

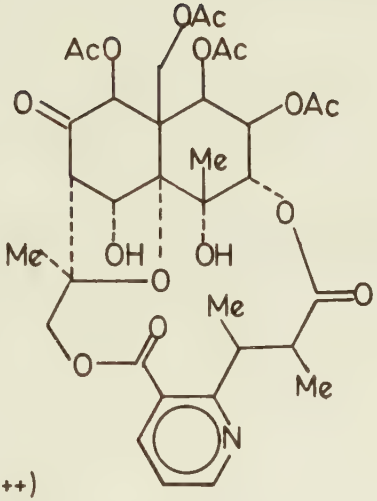
   Damit können das O-Proton (1H, δ = 5.68 ppm), die P-Protonen (2H, δ = 1.75 ppm) und das Q-Proton (1H, δ = 6.18 ppm) zugeordnet werden. Das Q-Proton dürfte die Position C-1 einnehmen, da es einem quaternären Kohlenstoffatom benachbart ist. Dann gehört das O-Proton zu C-2 und das P-Proton zu C-3 (XIV).



XIII XIV



+)
Isoeuonymiol
Octaacetat



++)
Neoevonin

Die zusätzlichen neun Protonen stammen von einem monosubstituierten Benzolring und einem Pyridinring.

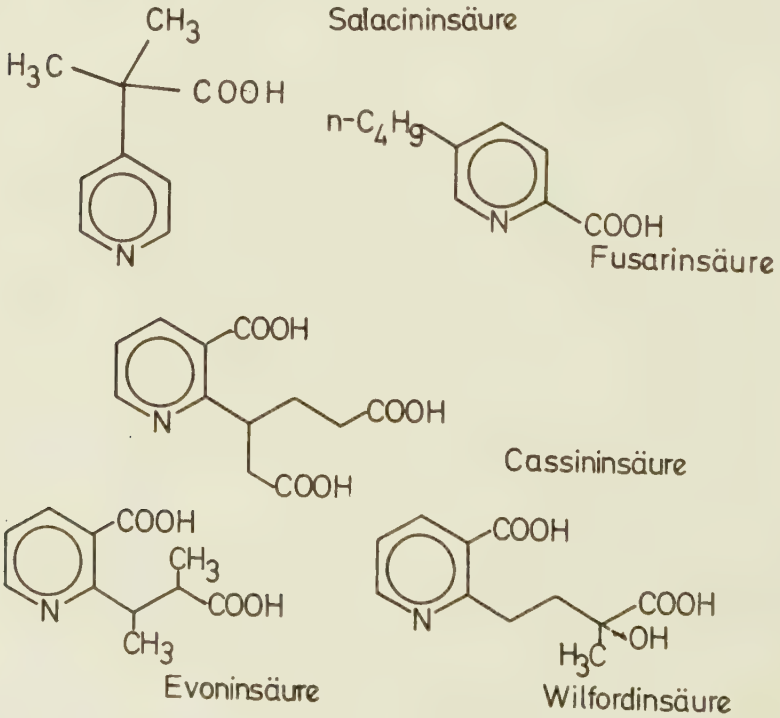
6. Die bei δ = 7.27 und δ = 7.37 ppm erscheinenden zwei Multiplette gehören zum monosubstituierten Pyridinring. Die beobachteten ortho-Kopplungskonstanten J = 7.0 Hz und meta-Kopplungskonstanten J = 1.0 Hz bei δ = 7.40, δ = 7.52 und δ = 8.01 ppm sind typisch für einen unsubstituierten Benzoylkern.

   Die diamagnetische Verschiebung der Protonen des Pyridinringes weist auf einen Anisotropieeffekt durch benachbarte Substituenten hin. Dieser positive Abschirmungseffekt wäre durch Carbonylgruppen oder Benzolring denkbar.

   Bei der angenommenen Summenformel bleibt noch eine Isopropylgruppe übrig, wenn man den Sesquiterpenteil, zwei Acetylgruppen, eine freie OH-Gruppe und eine Benzoylgruppe abzieht.

In Salacinin A liegt demzufolge ein neuartiges Pyridinderivat anstelle der bisher bekannten stickstoffhaltigen Carbonsäurederivate, wie Cassininsäure [34], Evoninsäure [101] und Wilforidinsäure [102] usw. vor. Das ^{1}H-NMR-Spektrum wäre mit den zwei übrig gebliebenen Methylgruppen und dem diamagnetisch verschobenen Pyridin-H- in Einklang.

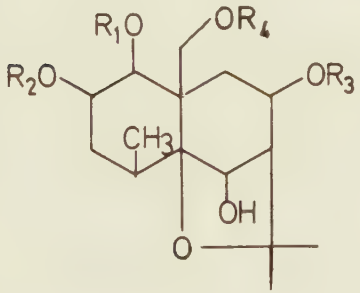
Diese Carbonsäure, eine α-(4-Pyridyl)-isobuttersäure wurde Salacininsäure genannt. Es wäre die erste natürlich vorkommende Carbonsäure mit 4 Kohlenstoffatomen in der Seitenkette des Pyridinringes. Cassininsäure und Fusarinsäure [88] enthalten dagegen 5 C-Atome in der Seitenkette, während die oben beschriebene Evoninsäure und Wilforidinsäure 6 C-Atome in der Seitenkette aufweisen.



Aus der Analyse der Feinstrukturen und der chemischen Verschiebungen des ^{1}H-NMR-Spektrums von Salacinin A kann die folgende Konstitution abgeleitet werden:

Salacinin A besitzt ein 1,2,6,8,15-Pentahydroxy-Dihydroagarofuran als Sesquiterpengerüst, das mit Benzoesäure, einer α-(4-Pyridyl)-isobuttersäure und zwei Essigsäure-Molekülen verestert ist.

Nach der Elektronegativität der Esterfunktionen geordnet sollten die Benzoesäure am C-1-OH, die α-(4-Pyridyl)-isobuttersäure an das C-2-OH und die zwei Acetat-Reste an C-8- und C-15-OH gebunden sein. Die freie Hydroxylgruppe muß die C-6-Stellung einnehmen.



R_1 : Benzoesäure

R_2 : Salacininsäure

R_3, R_4 } Essigsäure

Für den Vergleich und die Interpretation des Salacinin A-MS-Spektrums konnten die Spektren anderer Sesquiterpen-Polyester herangezogen werden. Besonders aufschlußreich war in diesem Zusammenhang das MS-Spektrum von Cassinin aus Cassine metabolica [36], das eine 1,2,3,6,8,9,13,15-Octahydroxy-5,11-epoxy-7-epi-eudesman-Grundstruktur besitzt.
In Abb. 8, S. 30, ist für das Salacinin A in Analogie zum Malkanguniol ein Fragmentierungsschema angegeben.

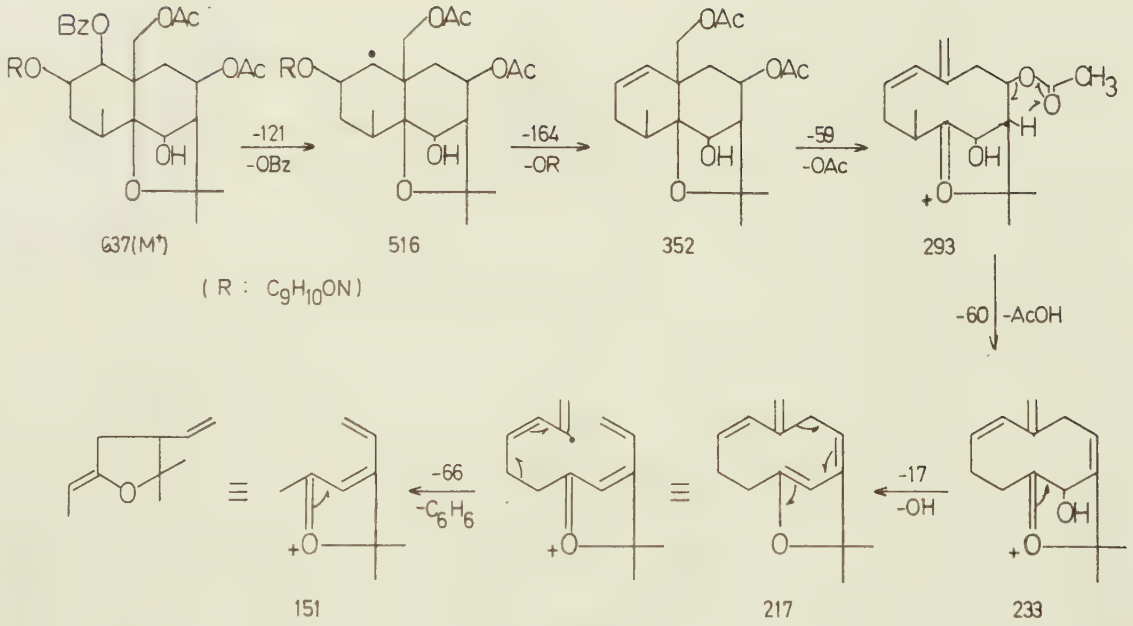


Abb. 8 : Fragmentierung von Salacinin A

3.1.5 Die dem Salacinin A zu Grunde liegende Konformation konnte aus den Kopplungskonstanten des ^{1}H-NMR-Spektrums abgeleitet werden. Die nach der Carplus und Conroy-Gleichung [35] sich ergebenden Diederwinkel geben an, ob die Esterfunktionen eine äquatoriale oder axiale Position einnehmen.

Eine analogische Untersuchung ist zur Konformationsanalyse von Cassinin, einem trans-Decalin mit β-ankondensiertem Dihydrofuran durchgeführt worden.

Für die Abschätzungen der sterischen Lage des Substituenten im trans-Decalin wurden folgende Gleichungen von Carplus und Conroy verwendet.

Die theoretische Gleichung:

$$J^3 = 4.22 - 0.5 \cos \Phi + 4.5 \cos 2 \Phi$$

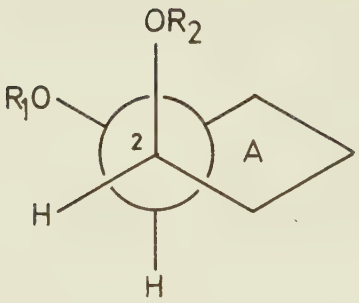
Die empirische Gleichung:

$$J^3 = 7 - \cos \Phi + 5 \cos 2 \Phi$$

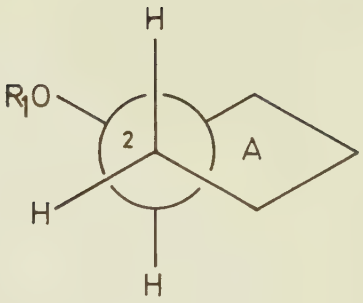
J^3 = Vicinale Kopplungskonstante

Φ = Diederwinkel

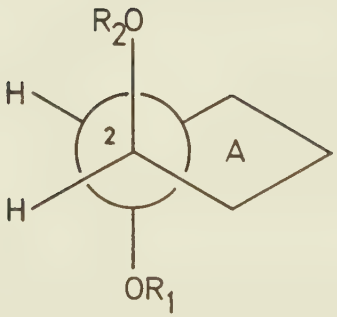
1. Nach der Newman-Projektion gibt es theoretisch vier verschiedene Konformationen für die C-1- und C-2-Kohlenstoffatome. Aus der Berechnung des Diederwinkels zwischen den beiden Protonen am C-1 und C-2 ergeben sich etwa 90°, da die J^3 Kopplungskonstante 1 Hz ist. Bei einem Diederwinkel von 90° kann nur die gauche-Form vorliegen, so daß die Konformation I-2 nicht in Frage kommt.



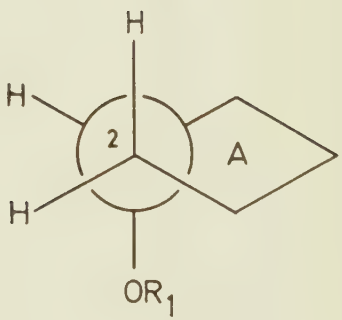
I — 1



I — 2



I — 3



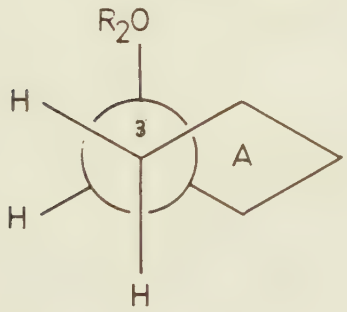
I — 4

Die vicinalen Kopplungskonstanten zwischen einem Proton am C-2-Atom und den zwei Protonen am C-3-Atom betragen J = 5.0 Hz und 11.0 Hz, was für vicinale Kopplungen des Cyclohexanringes typisch ist: 5.0 Hz für äquatorial-äquatoriale bzw. äquatorial-axiale und 11.0 Hz für axial-axiale Kopplungen.

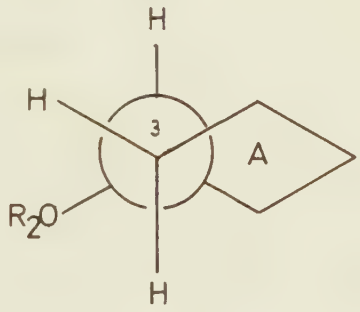
Nach der Newman-Projaktion kommen für die Konformation zwischen C-2-Atom und C-3-Atom die beiden Möglichkeiten II-1 und II-2 in Frage.

Da ein Proton am C-2-Atom mindestens mit einem Proton am C-3-Atom axial-axial gekoppelt sein muß, bleibt für $-OR_2$ am C-2-Atom nur die äquatoriale Anordnung wie in der konformeren Form II-2 angegeben.

Aus dieser äquatorialen Anordnung von $-OR_2$ ergibt sich von den drei möglichen Formen I-1, I-3 und I-4 als einzige Konformation für Ring A die Anordnung I-4, in der die $-OR_1$ axiale Stellung einnimmt.



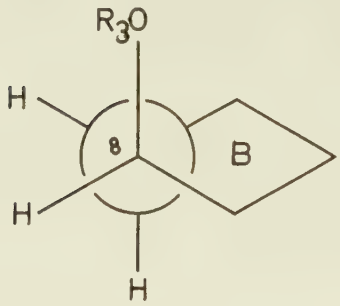
II – 1



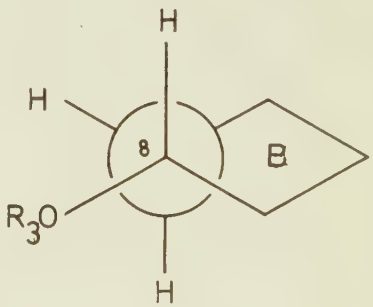
II – 2

2. Aus dem ABX-System für die beiden Protonen an C-9 und dem Proton an C-8 ergeben sich Kopplungskonstanten von J = 11.0 Hz, 3 Hz und 8 Hz. J = 11.0 Hz deutet auf eine geminale Kopplung des AB-Teils hin. Aus J = 3 Hz und 8 Hz lassen sich somit vicinale Kopplungen des AX- bzw. BX-Teils ableiten. Die vicinale Kopplung J = 3 Hz weist auf eine gauche-Anordnung und die mit J = 8 Hz auf eine anti-Anordnung hin.

Daraus folgt, daß in den zwei theoretisch möglichen Konformationen, III-1 und III-2, das C-8-Proton in anti-Anordnung vorliegen muß, so daß die $-OR_3$-Gruppe eine äquatoriale Position am C-8 einnimmt.



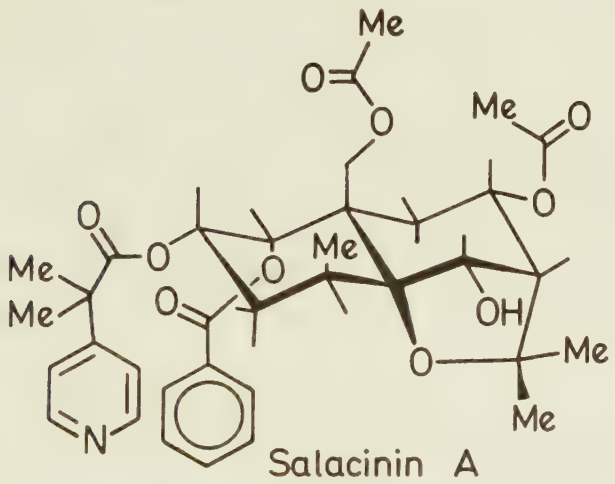
III – 1



III – 2

3. Die Kopplungskonstante (J_{HOCH}) für äquatoriale Hydroxylgruppen beträgt in Cyclohexanolen zwischen 4.2 Hz und 5.7 Hz. Für Salacinin A wurde aber eine Kopplungskonstante von J = 9.5 Hz gemessen. Sicher übt der Furanring einen zusätzlichen Einfluß auf den Cyclohexanring aus. Dadurch entspricht die Kopplung zwischen H-O-C-H in etwa der Kopplung zwischen H-C-C-H. Somit nimmt -OH am C-6-Atom die äquatoriale Stellung ein.

Die daraus abgeleitete Konformation für Salacinin A wäre demnach

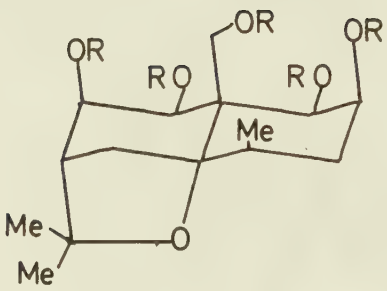


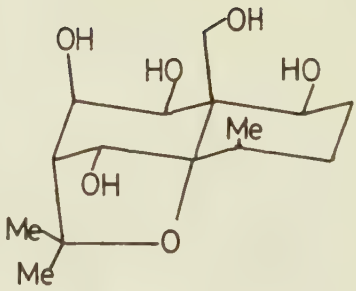
Salacinin A

Die vorgeschlagene Salacinin-A-Struktur gehört als Esteralkaloid zur Agarofuran-Sesquiterpenpentaol-Gruppe, während die meisten der bisher bekannten Sesquiterpen-Esteralskaloide mehr als 6 alkoholische Gruppen enthalten.

Ebenfalls ein pentaalkoholisches Terpengerüst besitzen auch Cathedulin-E2, -E8 aus Catha edulis [47-49] und die aus Euonymus latifolia von Oblechowicz-Stepien isolierte Substanz-I [103]. Der Unterschied zwischen diesen Verbindungen und Salacinin A liegt in der Stellung und Stereochemie der OH-Gruppen sowie in der Art und der Position der Esterfunktionen am Terpengerüst.

In Salacinin A besitzen alle OH-Gruppen in den Positionen 1, 2, 6, 8 und 15 β-Konfiguration. Cathedulin-E2 und -E8 unterscheiden sich von Salacinin A durch eine OH-Gruppe in 9-Stellung anstelle in 6-Position. Außerdem sind hier alle OH-Gruppen nicht β-, sondern α-konfiguriert. Der Substanz I kommt bei gleichem Sesquiterpengerüst eine 1α, 6β, 8α, 9α, 15-Pentaol-Struktur zu.





Cathedulin E2, E8 Substanz I

E2 R_1 R_2; OAc
R_3 R_5; ONic
R_4 ; OBz

E8 R_1 R_2; OAc
R_3 ; H
R_4 ; OBz
R_5 ; ONic

Während Salacinin A mit zwei Essigsäure-Molekülen, einer Benzoesäure und Salacininsäure verestert ist, enthält Cathedulin-E2 zwei Nicotinsäure-, zwei Essigsäure und einen Benzoesäure-Rest. Cathedulin-E8 enthält anstelle zweier Nicotinsäurereste nur einen Nicotionsäurerest und eine freie Hydroxylgruppe.

Die ^{1}H-NMR-Daten dieser Substanzen sind wegen der unterschiedlichen Substituionen nicht direkt vergleichbar. Man kann jedoch im Spektrum dieser Substanz-Gruppe das typische Dublett-Dublett des AB-Systems von C-15-Methylenprotonen zwischen δ = 4.0 - 5.0 ppm finden.

Das Singulett (δ = 6.18 ppm) des C-1-Protons von Salacinin A entspricht dem Singulett (δ = 6.09 bzw. 6.67 ppm) des C-9-

Protons von Cathedulin-E2 bzw. -E8, da beide Signale von einem sterisch gleich angeordneten Proton stammen. Dieselbe gauche Form besitzen das C-1-Proton und das C-2-Proton von Salacinin A sowie das C-9-Proton und das C-8-Proton des Cathedulin-E2 bzw. -E8.

Tabelle 4: Zuordnung des 400 MHz ^{1}H-NMR-Spektrums von Salacinin A

Signal	δ +) (in ppm)	Multiplizität	Integration	J (in Hz)	Verknüpfung	Zuordnung
a	0.90	d	3	7.5		H-14
c	1.37	s	3	-		H-12
d	1.49	s	3	-		H-13
e,f	1.59	s	6	-		H-3",4"
p	1.75	m	2	-		H-3
a'	2.03	s	3	-		Acetat-CH_3
b'	2.25	s	3	-		Acetat-CH_3
b	2.18	m	2	-		H-4
l	2.24	d	1	3.0		H-7
g,h	2.69	m	2	-		H-9
i,k	4.45	dd	2	3:8		H-8
m	4.65	d	1	12.0		H-15^1
n	4.85	d	1	12.0		H-15^2
j	5.29	dd	1	3:9.5		H-6
o	5.68	dd	1	5:11		H-2
q	6.18	s	1	-		H-1
	7.27	m	2	-		H-6",8"
	7.36	m	2	-		H-7",9"
	7.40	t	1	6.0		H-5'
	7.52	t	2	6.0		H-4',6'
	8.01	d	2	6:1		H-3',7'

+) -Werte relativ zu $CHCl_3$ (δ = 7.75 ppm), berechnet auf TMS (δ = 0 ppm)

3.1.6 Die Auswertungen der beiden protonen-breitbandenentkoppelten und protonen-off-Resonanz-entkoppelten ^{13}C-NMR-Spektren von Salacinin A ergeben eine gute Übereinstimmung mit der aus dem Protonresonanzspektrum abgeleiteten Konfiguration.

Für die Abschätzung der ^{13}C-chemischen Verschiebungen wurde die Grant-Paul-Beziehung benutzt [36,37,41].

Grant-Paul-Beziehung:

$\delta_k : \delta_{k(RH)} + \Sigma Z_{ik} \quad (+ \Sigma S_i)$

δ_k : ^{13}C-chemische Verschiebung des Kohlenstoff K mit Substituenten

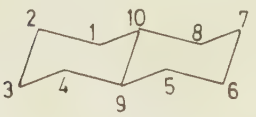
$\delta_{k(RH)}$: ^{13}C-chemische Verschiebung des Kohlenstoff K in die Form Hydrokohlenstoff RH

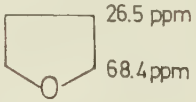
ΣZ_{ik} : Inkremente für Substituent X der Stellung i

ΣS_i : Sterische Korrekturen der Substituenten X_i

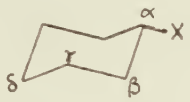
Die Grundwerte, Inkremente und Korrekturtermen für Salacinin-Gruppen wurden aus Werten wie trans-Dekalin, 1,1-Dimethylcyclohexan und 1,2-Dimethylcyclohexan entnommen und theoretisch nach obiger Gleichung ausgewertet.

1. Als Grundwerte für trans-Dekalin verwendeten wir die von PAUL [36] gemessenen Werte, nämlich für C-2, -3, -6, -7-Kohlenstoffatome den Wert δ = 27.1 ppm, für C-1, -4, -5, -8-Kohlenstoffatome δ = 34.7 ppm und für C-9 und C-10 δ = 44.2 ppm. Die Grundwerte für das α- bzw. β-Kohlenstoffatom des Dihydrofuranringes betragen δ = 68.4 ppm und δ = 26.5 ppm.





2. Die empirischen Inkremente der äquatorialen und axialen Substitutionen am Cyclohexangrundgerüst sind [40-45]:



X	$Z\alpha_a$	$Z\alpha_e$	$Z\beta_e$	$Z\beta_a$	$Z\gamma_e$	$Z\gamma_a$	$Z\delta_e$	$Z\delta_a$
CH_3	6	1.5	9	5.5	0	-6.5	-0.3	0
OH	43	39	8	5	-3	-7	-2	-1
$OCOCH_3$	46	42	5	3	-2	-6	-2	0
OCH_3	52	47	4	2	-3	-7	-2	-1

3. Als Korrekturterme gelten für 1,1-Dimethylcyclohexan: $Z\alpha_a\beta_e$ = -3.8, $Z\beta_a\beta_e$ = - 1.3, $Z\gamma_a\beta_e$ = 2.0 und für 1,2-Dimethylcyclohexan: $Z\alpha_e\beta_a$ = -2.9 (cis), $Z\alpha_e\beta_e$ = -2.9 (trans), $Z\beta_e\gamma_a$ = -0.8 (cis), $Z\beta_e\gamma_e$ = 1.6 (cis), $Z\alpha_a\beta_e$ = -3.4 (cis) (a = axial, e = äquatorial).

Für die übrigen Substituenten im Salacinin A, wie Benzoesäure und α-(4-Pyridyl)-isobuttersäure wurde das Inkrement der Essigsäure [54] der Berechnung zu Grunde gelegt.

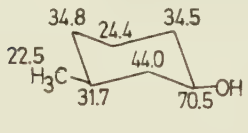
Das Inkrement der -OH-Gruppe wurde nicht zum trans-Dekalin, sondern zum β-Dihydrofuranring hinzu addiert.

Die sterischen Korrekturterme können nur aus dem des methylsubstituierten Cyclohexans errechnet werden.

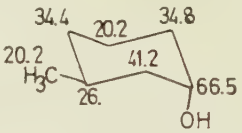
Die Abschätzung der gesamten ^{13}C-NMR-Daten wurde im Rahmen der aus folgenden Beispielen abgeleiteten allgemeinen Regeln vorgenommen:

a) Als Beispiel wurden folgende Aubstanzen ausgewählt:

1) 3-Methylcyclohexanol: [45]

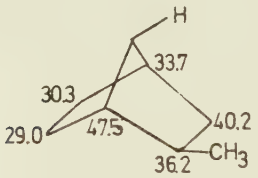


cis

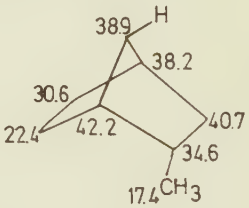


trans

2) 2-Methylnorbornan: [39]

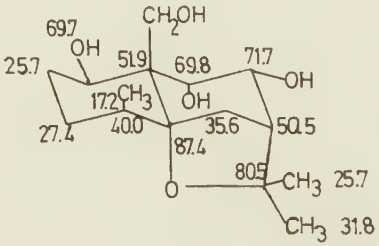


exo –

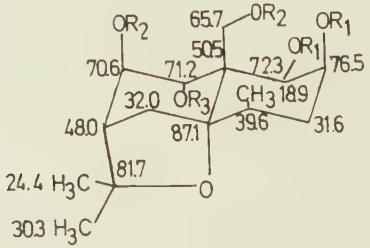


endo –

3) Malkanguniol nach KRAK: [50]



4) Cathedulin E2 und E8 nach WHITING: [47-49]



b) Die daraus abgeleiteten allgemeinen Regeln sind:
   1) Axiale Substituenten schirmen stärker ab als äquatoriale.
   2) Endo-Substituenten schirmen bei sterischen Korrekturen stärker ab als Exo-Substituenten.

Wie die Gegenüberstellung in Tabelle 5, S. 43, zeigt, weichen die gefundenen ^{13}C-Werte nicht mehr als $\pm$ 2 ppm von der errechneten ab, obwohl etwas unterschiedliche Inkremente und sterische Korrekturterme benutzt wurden.

Das Signal für C-2 (δ = 74.0 ppm) sollte theoretisch auf Grund der Abschirmung der γ-CH_3-Gruppe bei höherem Feld δ = 69.2 ppm erscheinen.

Eine ähnliche paramagnetische Verschiebung zeigt auch das Signal für C-7 (δ = 52.2 ppm), das nach theoretischer Berechnung bei δ = 48.5 ppm auftreten sollte.

Diese Erscheinung wird dadurch erklärt, daß die sterische Anordnung der α- und β-Substituenten den induktiven Effekt der Carbonyl-Gruppen abschwächt.

Bei den Cathedulinen E2 und E8 (obige Beispiele) kann man vergleichbare Verhältnisse am C-2-Kohlenstoffatom finden. Das Signal, das nach den theoretischen Berechnungen, δ = 27.1 (Grundwert) + 46 (α_aOR) + β_eOR) - 6.5 (γ -CH_3) - 3.4 ($\alpha_a\beta_e$), bei 68.2 ppm erscheinen sollte, wird bei 76.5 ppm gefunden.

Die beiden Methyl-Gruppen des α-(4-Pyridyl)-isobutylesters erschienen mit δ = 25.8 ppm an der gleichen Stelle und sind somit isochron. Nach der Inkrementenberechnung ergab sich ein Wert von 28.0 ppm: - 2.3 (-CH_4) + 9.1 (α -C-) + 9.4 (β -C-) + 9.3 (β -Ar.) + 2.5 (β -COO-)=28.0 ppm

Das quaternäre Kohlenstoffatom des Isobuttersäure-Derivates war dem Signal bei δ = 52.5 ppm zuzuordnen. Die übrigen zwei Methyl-Signale bei δ = 20.7 und 21.2 ppm stammen von den beiden Acetylgruppen.

Nach den Angaben der Literatur ließen sich die ^{13}C-chemischen Verschiebungen der Benzoesäure folgendermaßen zuordnen: δ = 133.4 ppm (p-CH-), 129.7 ppm (o-CH-), 128.6 ppm (m-CH-) und 128.8 ppm (-C-).

Für den p-substituierten Pyridin-Ring sprachen die Signale bei δ = 127.7 ppm (para-Kohlenstoffatom), bei δ = 144.4 ppm (ortho-Kohlenstoffatom) und bei δ = 126.2 ppm (meta-Kohlenstoffatom).

Die stärkere Abschirmung des ortho stehenden Kohlenstoffatoms im Pyridin-Ring ist mit seiner besonderen räumlichen Lage zu erklären [51-53].

Schließlich kommen vier Signale bei δ = 167.5, 170.0, 170.5 und 170.8 ppm vor, die auf vier Carboxyl-Gruppen (C=O) hinweisen.

Damit sind die Konstitution und die Konfiguration von Salacinin A bestätigt. Die gesamten Daten des ^{13}C-NMR-Spektrums sind in Tabelle 6, S. 44, wiedergegeben.

Tabelle 5: Abschätzung und Auswertung der ^{13}C-chemischen Verschiebungen von Salacinin A

C	Grundwerte ($\delta_{k(RH)}$)	Inkremente (Z_{ik})	Sterische Korrekturterme (S_i)	δ_k/ gefunden
		$\alpha_a OR$ $\beta_e OR$ $_aCH_3$	β_{ae} $\alpha_a\beta_e$ $\alpha_a\beta_a$	(77.3)
1	34.7	+ 46.0 + 5.0 - 0.3	- 1.3 - 3.4 - 2.9	77.8
		$\alpha_e OR$ $\beta_a OR$ $\gamma_a CH_3$	γ_{ae} $\beta_a\gamma_e$	(74.0)
2	27.1	+ 41.0 + 3.0 - 6.5	+ 2.0 + 1.6	69.2
		$\beta_e OR$ $\beta_a CH_3$ $\gamma_a OR$	γ_{ae} $\beta_a\gamma_a$ $\beta_a\gamma_e$	(26.5)
3	27.1	+ 5.0 + 5.5 - 6 x 2	+ 2.0 - 0.8 + 1.6	28.4
		$\alpha_a CH_3$ $\gamma_e OR$	β_{ae}	(33.4)
4	34.7	+ 1.5 - 2.0	- 1.3	32.9
		$\alpha_a OH$ $\beta_a CH_3$ $\beta_e OH$ $\delta_e ORx2$	α_{ae} β_{ae} $\beta_e\gamma_a$	(91.01)
5	44.2	+43.0+5.5 +8.0 - 2x2	- 3.8 - 1.3 - 0.8	90.8
		$\alpha_e OH$ $\gamma_e OR$ $\beta_e CH_3$ $\beta_a OH$	β_{ae} $\beta_a\gamma_e$ $\alpha_e\beta_a$ x 2	(75.5)
6	34.7	+39.0-2.0 + 5.5 + 5.0	- 1.3 + 1.6 - 2.9 x 2	76.7
		$\beta_e OH$ $\beta_a CH_3$ $\beta_e CH_3$ $\beta_e OR$	γ_{ae} β_{ae} β_{ae} x 2	(52.2)
7	27.1	+8.0 +5.5 + 9.0 + 5.0	+ 2.0 - 1.3 - 3.4 x 2	48.5
		$\alpha_e OR$ $\gamma_e OH$ $\beta_a CH_3$	γ_{ae} $\beta_a\gamma_e$	(75.0)
8	27.1	+ 42.0 - 3.0 + 5.5	+ 2.0 + 1.6	75.2
		$\beta_e OR$ $\beta_a CH_3$	β_{ae} γ_{ae}	(44.2)
9	35.7	+ 5.0 + 5.5	- 1.3 + 2.0	45.9
		$\alpha_a CH_3$ $\beta_a OR$ $\gamma_e ORx2$ β-O-	α_{ae}	(50.5)
10	44.2	+ 6.0 +3.0 -2 x 2 +6.5	- 3.8	51.9
		α-CH_3 x 2 β-C- β-O- γ-O-CO-		(82.1)
11	68.4	+ 9.1 x 2 + 9.4 - 6.2 - 6.0		83.8
	CH_4	α-C- β-C- x 2 γ-C- x 2 β-O-		(30.7)
12	-2.3	+9.1 +9.4 x 2 -2.5 x 2 +10.1		30.7
13	C-12	- 4.0 (synperiplanar Korrektur)		(26.4) 26.7
14	-2.3(α-C-)	9.1 + (β-C- x 2)+9.4x2+γ(-C-)-2.5x2-6,2		(15.9) 16.7
15	-2.3 + 9.1 + 9.4 x 2 + 46	(α-OCOCH_3) -2.5 x 2 -6.2		(60.8) 60.4

Tabelle 6: Zuordnung des 62.8 MHz ^{13}C-NMR-Spektrums von Salacinin A

δ +) (in ppm)	Multiplizität	Strukturelement	Zuordnung
15.859	Q	CH_3-	14
20.718	Q	CH_3-	Ac
21.160	Q	CH_3-	Ac
25.799	Q	CH_3-	3",4"
26.373	Q	CH_3-	13
26.461	T	-CH_2-	3
30.732	Q	CH_3-	12
30.382	D	-CH-	4
44.206	T	-CH_2-	9
50.538	S	-C-	10
52.187	D	-CH-	7
52.482	S	-C-	2"
60.816	T	CH_2O-	15
73.981	D	CHO-	2
74.983	D	CHO-	8
75.542	D	CHO-	6
77.265	D	CHO-	1
82.066	S	-C-	11
91.063	S	-C-	5
126.199	D	CH-arom.	6",9"
127.671	S	C-arom.	5"
128.555	D	CH-arom.	4',6'
128.776	D	CH-arom.	3',7'
129.703	S	C-arom.	2'
133.400	D	CH-arom.	5'
144.504	D	CH-arom.	7",8"
167.504	S	C=O	carboxyl C=O
169.978	S	C=O	carboxyl C=O
170.494	S	C=O	carboxyl C=O
170.773	S	C=O	carboxyl C=O

+) bezogen auf TMS δ = 0 ppm als innerer Standard

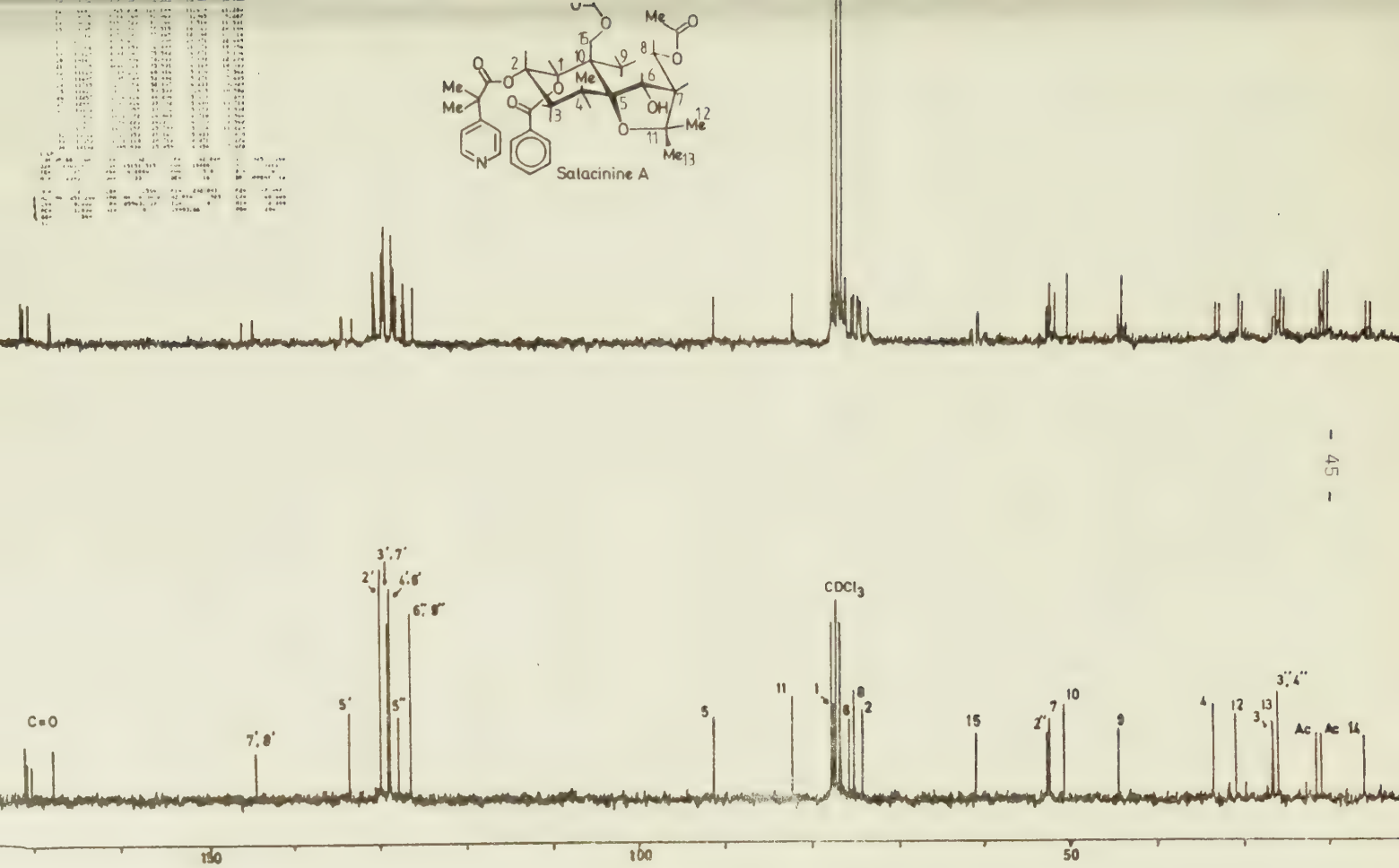


Abb. 9

^{13}C-NMR-Spektrum von Salacinin A

3.2 Salacinin B

3.2.1 Das UV-Spektrum von Salacinin B mit den Maxima bei 232, 250, 258, 264, 275 und 283 nm sind in Form, Lage und Intensität den Banden von Salacinin A sehr ähnlich.
Es war daher zu vermuten, daß Salacinin B dieselben chromophoren Gruppen, nämlich eine Benzoyl-Gruppe und eine Pyridyl-Carboxyl-Gruppe wie Salacinin A, enthält.

Das IR-Spektrum von Salacinin B war durch C-O-Valenzschwingungsbanden bei 1240 und 1210 cm^{-1} bzw. starke Ester-Banden bei 1730 - 1750 cm^{-1} charakterisiert. Dies deutete ebenfalls auf eine dem Salacinin A ähnliche Struktur hin.

Die übrigen im IR auftretenden Signale von Salacinin B konnten in folgender Weise zugeordnet werden (Tabelle 7):

Tabelle 7:

Gruppen	Frequenzen (cm^{-1})
Isopropyl $(CH_3)_2C<$	1380 m, 1365 m
Methyl CH_3-	1365 m, 2980 m, 2920 m
Methylen $-CH_2-$	1450 m
Methin -CH-	2870 w
Tertiärer Alkohol -C-OH	1270 s
α,β-gesättigte Äther -C-O-C-	1080 m
monò.-subs.-Benzyl -C=C-, bzw. weitere Aryl -C-H-	740 w, 690 w 1600 w, 3080 - 3030 w
Carbonyl, Äther C=O, -O-	1750 s
-C-O-	1240 - 1210 s

s = starke Bande

m = mittlere Bande

w = schwache Bande

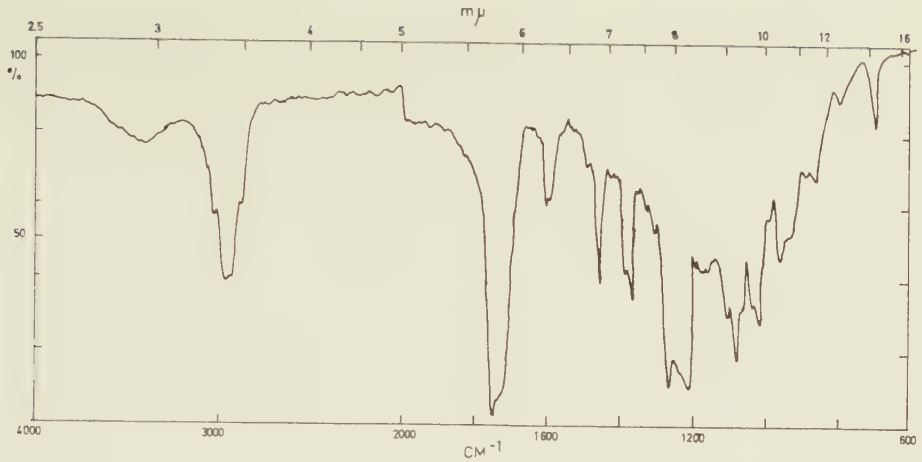


Abb. 10
IR-Spektrum von Salacinin B

3.2.2 Das hochaufgelöste Massenspektrum von Salacinin B liefert ein Molekulargewicht von 679.368, aus dem sich die Summenformel $C_{39}H_{53}NO_9$ (ber. 679.372) ergibt. Die Summenformel unterscheidet sich damit um C_4H_{10} (- O) von Salacinin A.

Dieser Summenformel entsprechen 14 Doppelbindungs-Äquivalente, von denen acht zu zwei Aromaten und drei zu dem tricyclischen Sesquiterpengerüst gehören. Die restlichen drei Doppelbindungsäquivalente weisen auf drei Carbonyl-Gruppen hin. Aus den Fragmentierungen von Salacinin B waren folgende Ester-Komponenten erkennbar:

1. Die Abspaltungen von 105 bzw. 121 Masseneinheiten, wie sie sich aus den Massendifferenzen von m/e 679 und 574, 398 und 293, 679 und 558, 595 und 474 sowie 456 und 335 ergaben, deuten auf eine Benzoesäure hin.

2. Die Fragmente m/e 679 und 532, 679 und 514, 621 und 474 sowie 563 und 398 (Massendifferenzen von 147 und 165 Masseneinheiten) wiesen auf das gleiche Pyridinsäure-Derivat wie in Salacinin A hin.

Zieht man 1 Mol Benzoesäure ($C_7H_5O_2$-), 1 Mol Salacininsäure ($C_9H_{10}O_2N$-) sowie Sesquiterpengerüst ($C_{15}H_{21}O$-) aus der Summenformel ab, bleibt für das Molekül noch ein $C_8H_{17}O_4$-Rest übrig.

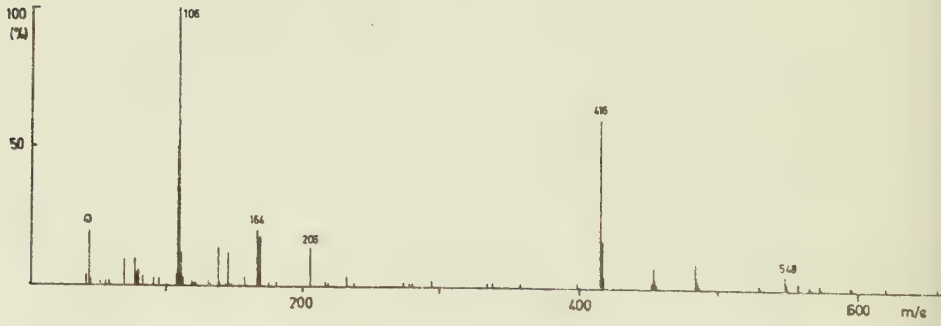


Abb. 11
MS-Spektrum von Salacinin B

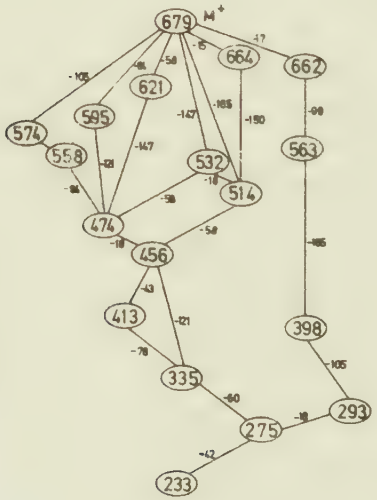


Abb. 12
Zerfallsschema von Salacinin B

3.2.3 Das ^{1}H-NMR-Spektrum von Salacinin B läßt sich auf Grund von Doppelresonanzexperimenten analog zu Salacinin A interpretieren.

1. Aus der Kopplung eines Tripletts bei δ = 4.44 ppm mit einem Dublett bei δ = 2.73 ppm, das mit einem zweiten Triplett bei δ = 5.01 gekoppelt ist, leiten sich die C-8- (δ = 4.44 ppm), C-7- (δ = 2.73 ppm) und C-6-Atom (δ = 5.01 ppm) gebundenen Protonen ab.

2. Ein Doppel-Dublett bei δ = 4.42 ppm und 5.05 ppm eines AB-Systems läßt auf Grund seiner Lage auf eine Methylengruppe einer Acylgruppe ohne benachbartes Proton schliessen. Dadurch muß es den Protonen am C-15-Atom zugeordnet werden.

3. Das mit einem Multiplett (δ = 1.89 ppm) gekoppelte Doppel-Dublett bei δ = 5.44 ppm konnte als das Signal von dem mit einer benachbarten Methylengruppe verknüpften C-2-Proton zugeordnet werden. Damit stammt diese Methylengruppe von den C-3-Protonen (m, δ = 1.89 ppm). Das weitere bei δ = 5.36 ppm auftretende Singulett läßt sich dem C-1-Proton zuordnen.

4. Im aromatischen Bereich des Spektrums lassen sich Benzoesäure und parasubstituierte Pyridincarbonsäure nachweisen. Die Signale bei δ = 7.26 ppm und 7.36 ppm gehören zu dem ortho- und meta-ständigen Proton des Pyridinkerns. Zwei weitere Protonen in meta-Stellung und ein Proton in para-Stellung der Benzoesäure erscheinen als Triplett bei δ = 7.40 ppm und 7.56 ppm.

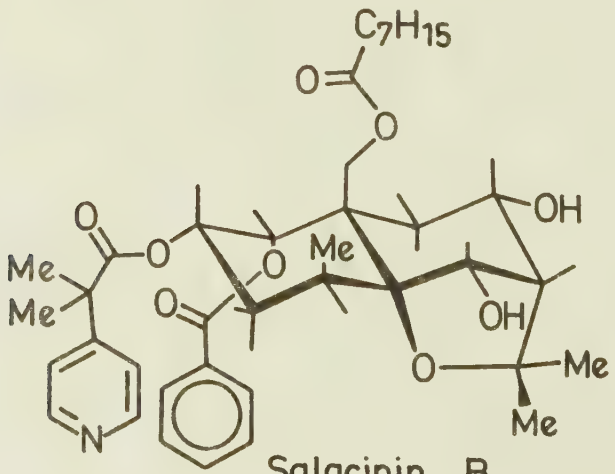
5. Ein Unterschied zu Salacinin A findet sich jedoch im Bereich von δ = 0 ppm bis 3 ppm: Hier treten mehrere Multipletts neben drei Singuletten bei δ = 1.37 (6H), 1.60 (3H) und 1.71 ppm (6H) auf. Diese können als zwei Methyl-Signale an C-12-, C-13 und als weitere zwei bei einem quaternären Kohlenstoffatom verknüpften Methylgruppe zugeordnet werden.

Die weitere Multiplette in diesem Bereich entsprechen einem aus dem Massenspektrum abgeleiteten Strukturteil der Summenformel $C_8H_{17}O_4$-. Mit den Integrationen und den chemischen Verschiebungen der Multiplette bei δ = 0.94 ppm (5H), 1.35 ppm (8H) und 2.21 ppm (2H) wird das Vorhandensein einer n-Octansäure $C_8H_{15}O_2$- bewiesen:
Das Multiplett bei δ = 0.94 ppm (5H) wird den Protonen von C-7' und -8', das Multiplett bei δ = 1.35 ppm (8H) den Protonen von C-3' bis C-6' und das Triplett bei δ = 2.21 ppm (2H) den Protonen am C-2' der n-Octansäure zugeordnet.

Die übrigen 2H- und 2 O-Atome der Summenformel können als zwei frei Hydroxylgruppen interpretiert werden.

Das parasubstituierte Pyridin-Derivat und die zwei quaternären Methylgruppen können wie bei Salacinin A als Salacininsäure identifiziert werden. Damit enthält Salacinin B eine Benzoesäure, eine n-Octansäure, Salacininsäure und zwei Hydroxylgruppen auf demselben Terpengerüst.

Die Stellung für den Substituenten würde wie Salacinin A nach der Elektronegativität des Substituenten zugeordnet.
Danach wäre Salacinin B 1-Benzoyl-2-Salacinoyl-15-n-octonoyl-Salacinol.



Salacinin B

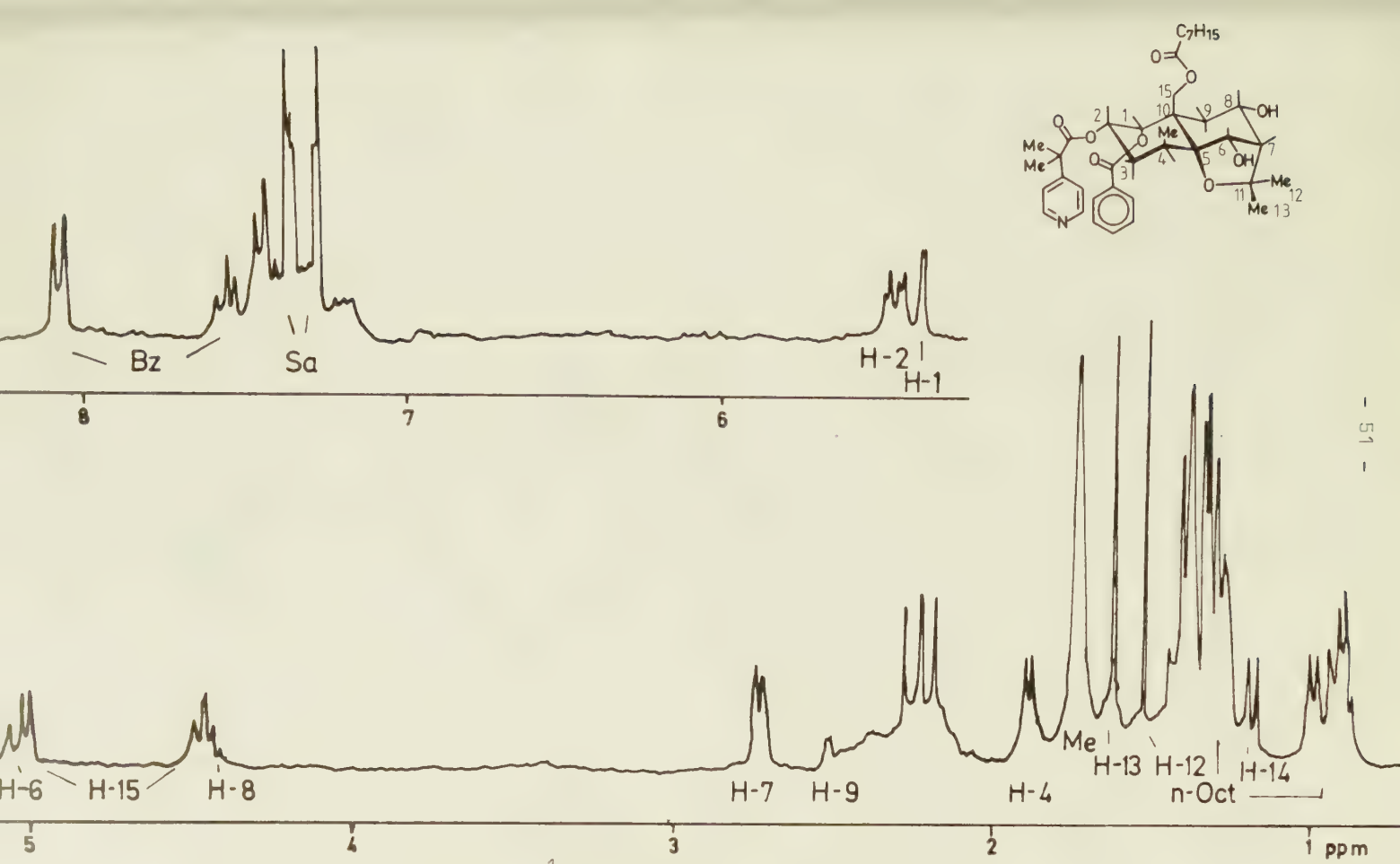


Abb. 13: ^{1}H-NMR-Spektrum von Salacinin B

3.3 Salacinin C

3.3.1 Nach dem hochaufgelösten Massenspektrum besitzt das Salacinin C einen Molekularpeak von 595.233 und eine Summenformel von $C_{32}H_{37}O_{10}N$. Die MS-Zerfallskette von Salacinin C weist wieder auf einen Polyester-Typ hin. Auch die UV- und IR-Spektren zeigen Ähnlichkeit mit denen von Salacinin A.

Die Esterspaltungen, 595 (M^+) - 474 (Masseneinheitsdifferenz -121), m/e 474 - 415 (-59), 415 - 292 (-123) und 292 - 233 (-59) bestätigen das Vorhandensein einer Benzoesäure-, einer Nicotinsäure- und von zwei Essigsäure-Molekülen. Für die weitere Fragmentierung ausgehend von dem Ionen-Peak m/e 233 ist das Sesquiterpengerüst verantwortlich. Abb. 14 gibt das Fragmentierungsschema wieder.

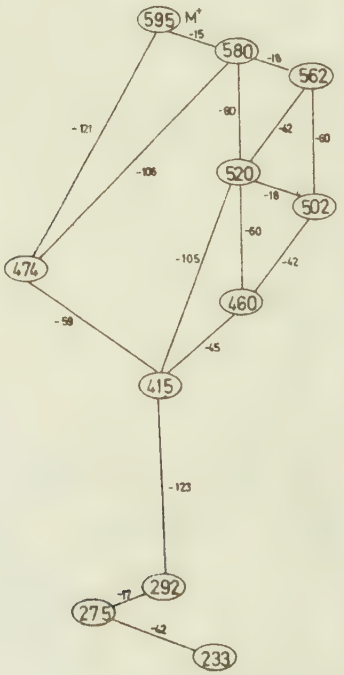


Abb. 14
Zerfallsschema von Salacinin C

3.3.2 In dem ^{1}H-NMR-Spektrum von Salacinin C erscheinen zwei Acetylgruppen bei δ = 1.84 und 2.35 ppm. Zwei Singulette bei δ = 1.63 und 1.56 ppm weisen auf zwei Methylgruppen aus dem Furanring hin.

Aus dem Dublett bei δ = 1.25 ppm erkennt man am C-4 eine Methylgruppe, die mit dem C-4-Proton geminal gekoppelt ist. Eine typische geminale Kopplung findet man auch beim Doppel-Dublett bei δ = 4.60 und 5.08 ppm (J = 12.0 Hz), das zu dem Proton am C-15 gehört.

Das Doppel-Dublett bei δ = 5.48 ppm, das mit dem Dublett bei δ = 2.54 ppm gekoppelt ist, kann dem C-8-Proton zugeordnet werden. Das Proton bei C-9 liefert das Dublett von δ = 2.54 ppm.

Das C-1-Proton erzeugt ein Singulett bei δ = 5.11 ppm und das nicht gekoppelte C-2-Proton erscheint als Doppel-Dublett bei δ = 6.78 ppm. Die Methylen-Protonen am C-3 kann man dem Multiplett bei δ = 1.60 ppm zuordnen. Das C-6-Methin-Proton, das mit dem Hydroxyl-Proton eine Kopplungskonstante J = 8.0 Hz hat, tritt bei δ = 5.73 ppm auf.

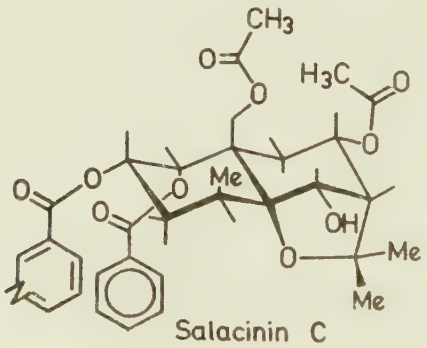
Die oben beschriebenen Signale weichen von jenen des Salacinins A um weniger als 1 ppm ab. Diese Abweichungen können auf die von den unterschiedlichen Substituenten hervorrufenden Van-der-Waals-Kräfte und induktiven Effekte zurückgeführt werden.

Im Aromaten-Bereich findet man eine Benzoesäure: Die ortho-ständigen Protonen treten als Dublett bei δ = 7.76 ppm, die meta-Protonen als Triplett bei δ = 7.20 ppm und die para-Protonen als Triplett bei δ = 7.38 ppm auf.

Außer Peaks des Benzolringes findet man keinen para-substituierten Pyridin-Ring wie in Salacinin A und B. Da das nicht aufgelöste Dublett bei δ = 8.82 ppm von einem ortho-ständigen Proton des Pyridinringes stammen mußte, läßt sich als Bestandteil für Salacinin C eine meta-substituierte Pyridin-Carbonsäure ableiten.

Das para-ständige Proton des Pyridinringes tritt bei δ = 7.42 ppm auf, das meta-Proton bei δ = 7.41 ppm und das ortho-Proton bei δ = 8.41 ppm.

Hieraus kann man die folgende Struktur für Salacinin C ableiten. Salacinin C, 8,15-Diacetyl-1-benzoyl-2-nicotinoyl-ester des Salacinols, unterscheidet sich somit von Salacinin A nur durch einen Nicotinoyl-Rest anstelle des Salacininsäure-Restes am C-2-OH und wie üblich nach ihrer Elektronegativität zugeordnet werden müßte.



Salacinin C

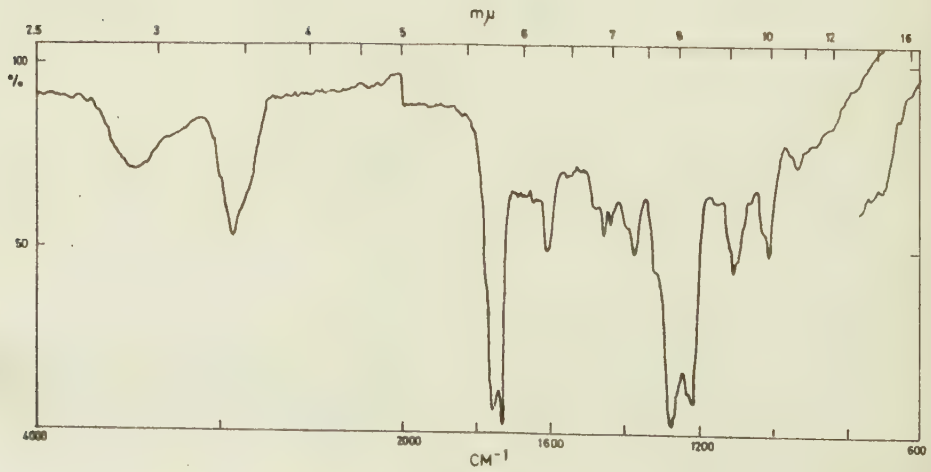


Abb. 15
IR-Spektrum von Salacinin C

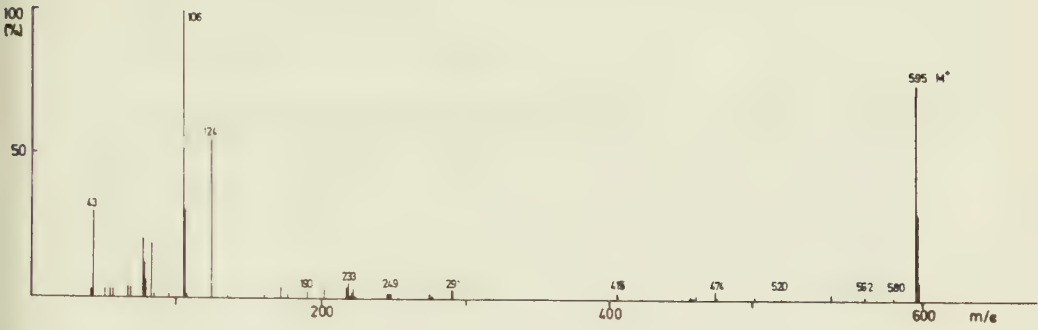


Abb. 16
MS-Spektrum von Salacinin C

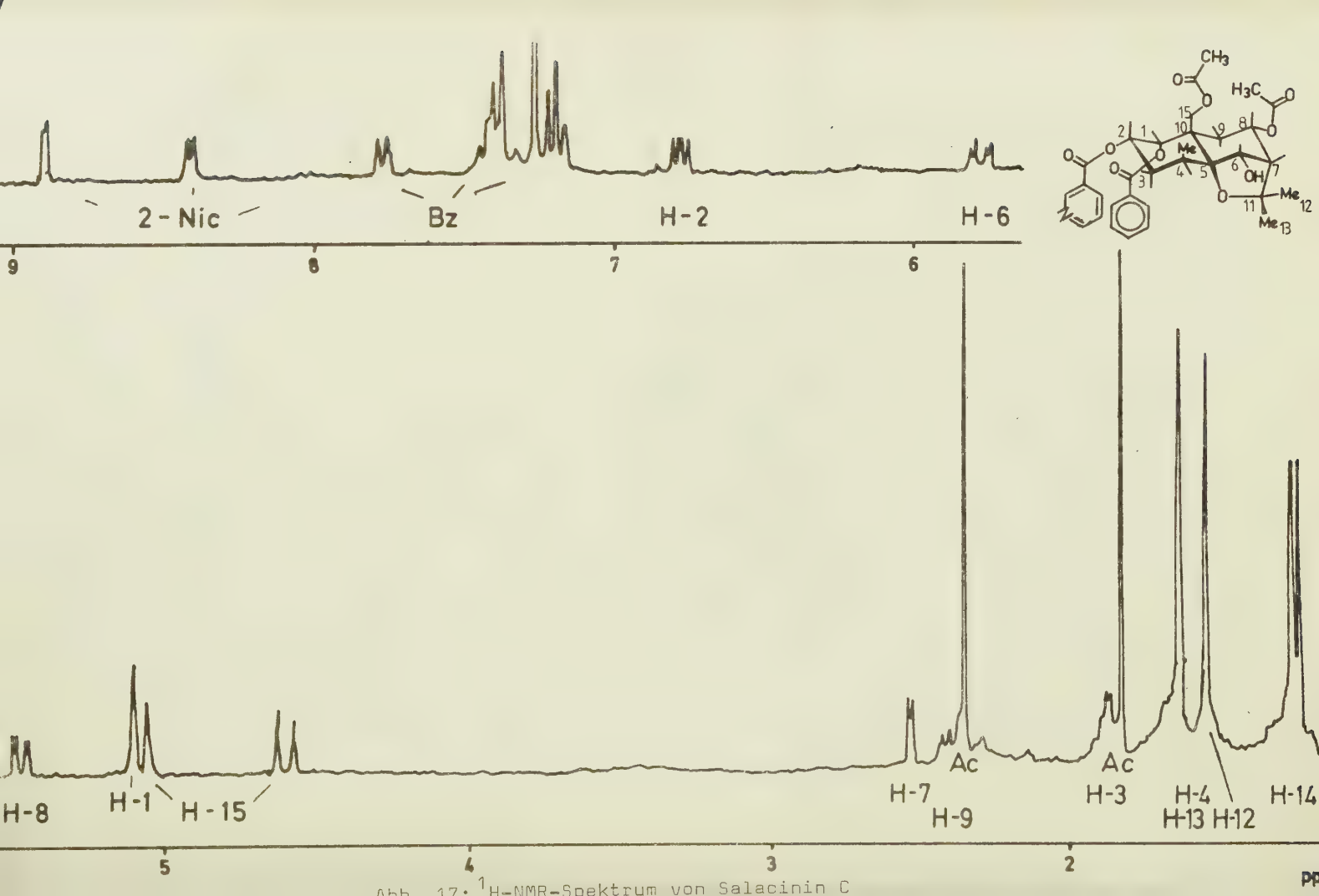


Abb. 17: ^{1}H-NMR-Spektrum von Salacinin C

3.4 Salacinin T

3.4.1 Das UV-Spektrum von Salacinin T unterscheidet sich von denen des Salacinin A, B und C darin, daß die α-Bande keine Überlagerung mit einem zweiten aromatischen Ringsystem erkennen läßt. Das Fehlen einer Dragendorff-Reaktion auf der DC-Platte, das UV-Spektrum und die Elementar-Analyse zeigen, daß es sich um einen N-freien Terpenester handelt.

Aus dem hochaufgelösten Massenspektrum ist ein Molekulargewicht von 490.206 und hieraus die Summenformel $C_{26}H_{34}O_9$ abzuleiten. Die Zerfallskette weist deutlich auf zwei Essigsäure- und einen Benzoesäure-Ester hin. Massendifferenzen zwischen m/e 472 und m/e 430 (- 42) und m/e 457 und m/e 415 sprachen für Essigsäure-Abspaltungen. Benzoesäure-Abspaltungen sind aus den Massendifferenzen zwischen m/e 475 und m/e 370 (- 105), m/e 457 und m/e 352 erkennbar. Aus dem Zerfallsmuster ab m/e 233 ergeben sich dieselben Fragmentierungen wie bei Salacinin A.

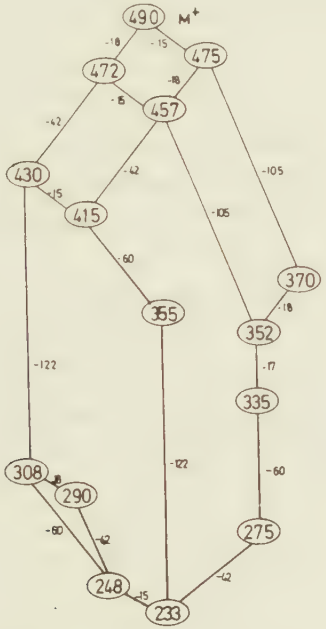


Abb. 18
Zerfallsschema von Salacinin T

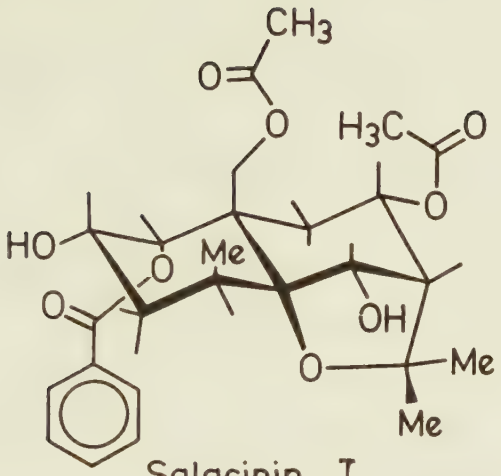
3.4.2 Im Aromatenbereich des ^{1}H-NMR-Spektrums von Salacinin T erscheint wie erwartet nur der Benzoesäurerest.

Zwei Acetyl-Gruppen und ein gekoppeltes Methyl-Signal treten bei δ = 1.90, 2.20 und 1.19 ppm auf. Zwei Methyl-Gruppen des Furanringes erscheinen bei δ = 1.59 und 1.51 ppm.

In Analogie zu Salacinin A kann man folgende Signal zuordnen.

1. Das C-1 Proton erscheint als Singulett bei δ = 5.02 ppm.
2. Das Triplett bei δ = 4.35 ppm entspricht dem C-2-Proton, das mit zwei Protonen von C-3 bei δ = 1.60 ppm (Multiplett) gekoppelt ist.
3. Die C-4-Methyl-Gruppe ist geminal gekoppelt mit dem C-4-Proton und erscheint bei δ =1.19 ppm. Das Multiplett bei δ = 2.06 ppm kann dem Proton bei C-4 zugeordnet werden.
4. Das C-8-Proton erscheint als Doppel-Dublett bei δ = 6.06 ppm. Es koppelt mit dem Dublett δ = 2.25 ppm, das den C-9-Proton zugeordnet ist.
5. Ein typisches AB-System der C-15-Protonen tritt als Doppel-Dublett bei δ = 4.33 und 4.90 ppm (J = 12.0 Hz) auf.
6. Die ortho-, meta- und para-ständigen Protonen der Benzoesäure ergeben analog ein Dublett bei δ = 7.88 ppm, ein Triplett bei δ = 7.55 ppm und ein Multiplett bei δ = 7.41 ppm.

Diese Zuordnungen weisen darauf hin, daß in Salacinin T das gleiche Terpengerüst wie in Salacinin A vorlag. Daneben enthält Salacinin T als Esterfunktionen zwei Acetylgruppen und eine Benzoesäure. Im Gegensatz zu Salacinin A enthält es keine Salacininsäure. Damit wäre Salacinin T das 2-O-Desacyl-derivat von Salacinin A.



Salacinin T

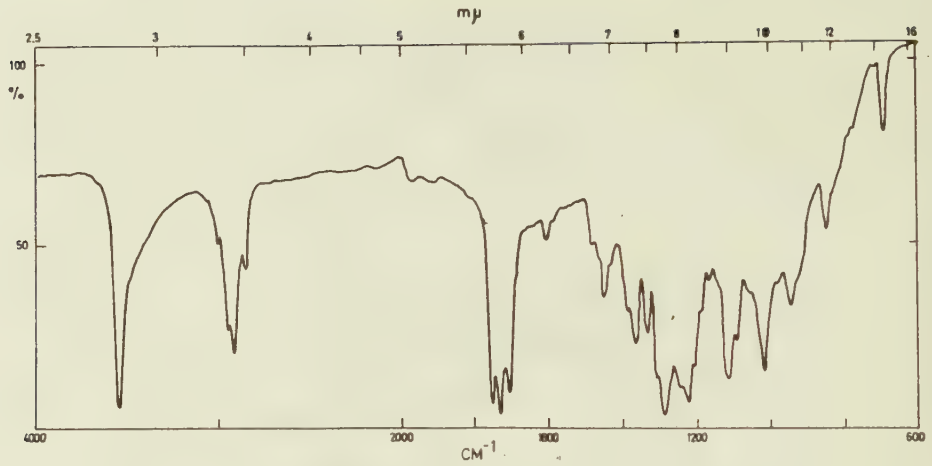


Abb. 19
IR-Spektrum von Salacinin T

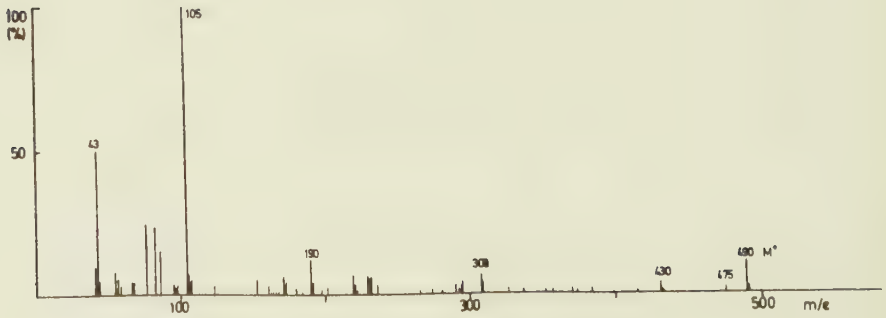


Abb. 20
Massen-Spektrum von Salacinin T

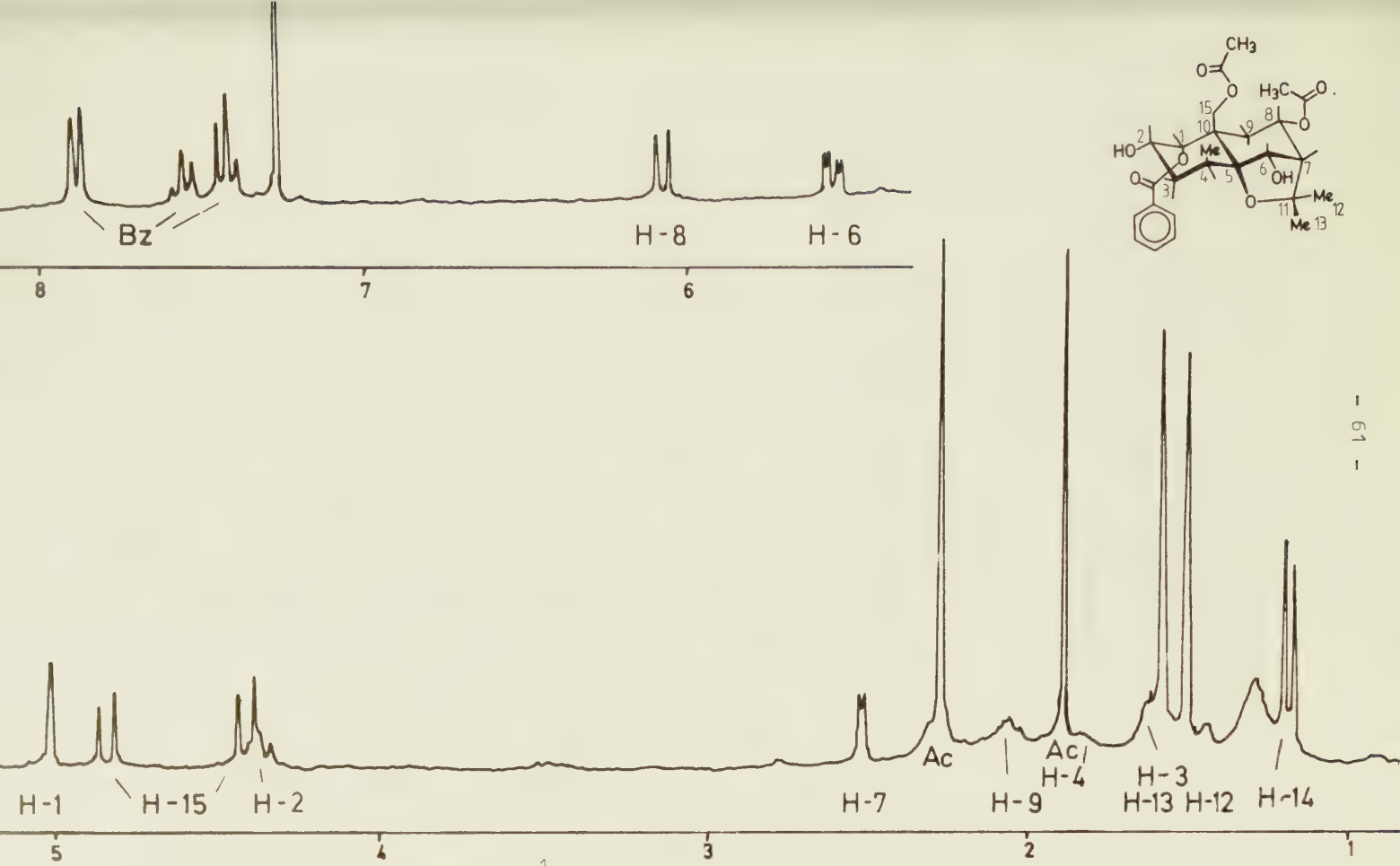


Abb. 21: ^{1}H-NMR-Spektrum von Salacinin T

Tabelle 8: Zuordnung des 250 MHz ^{1}H-NMR-Spektrums von Salacinin B, C und T

Zuordnung		δ (in ppm), Multplizität, J (in Hz)		
		B	C	T
1		5.36 s	5.11 s	5.02 s
2		5.44 dd (4:11)	6.78 dd (4:8)	4.35 t
3		1.37 m	1.60 m	1.60 m
4		1.89 m	1.87 m	2.06 m
6		5.01 t	5.73 dd (3:8)	5.52 dd
7		2.73 d (3)	2.52 d (3)	2.52 d (3)
8		4.44 t (3)	5.48 dd (3:8)	6.06 dd
9		2.51	2.40 d	2.25 d
12		1.53 s	1.63 s	1.51 s
13		1.60 s	1.84 s	1.59 s
14		1.28 d (8)	1.25 d (8)	1.19 d (8)
15	1	4.42 d (12)	4.60 d (12)	4.33 d (12)
	2	5.05 d (12)	5.08 d (12)	4.90 d (12)
Ac-Me		-	1.84 s	1.90 s
			2.35 s	2.20 s
	2'	2.21 t		
n-Oct.	3',6'	1.35 m	-	-
	7',8'	0.94 m		
	o	8.08 d	7.76 d	7.88 d
Bz	m	7.56 t	7.38 t	7.55 t
	p	7.40 t	7.20 t	7.41 t
	2"		8.41 dd (5:2)	
3-Nic.	4"		7.42 m	
	6"		8.82 d	
	MeX2	1.71 s		
Sa.-	Py	7.26 m	-	-
Säu.-	Py	7.36 m		

4.0 Hydrolytischer Abbau von Rohalkaloid I

Nachdem die Strukturvorschläge für Salacinin A, B, C und T wahrscheinlich gemacht hatten, daß allen neuen Verbindungen die gleiche Sesquiterpenpentaol-Grundstruktur zu Grunde liegt, versuchten wir diesen Alkohol durch Hydrolyse des aus dem Petroläther-Extrakt erhaltenen Rohalkaloidgemisches zu gewinnen. Gleichzeitig sollte aus dem Hydrolyseansatz auch die neue Salacininsäure mit Hilfe des GC-MS-Verfahrens als Methylester isoliert werden.

1. Salacininsäuremethylester

Das in Methanol gelöste Rohalkaloid I wurde mit Natriummethylat versetzt und der Verlauf der Hydrolyse dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach vollständig erfolgter Hydrolyse wurde die Methanollösung mit Chloroform extrahiert.

Diese enthielt ein Gemisch von Carbonsäuremthylestern. Die Auftrennung und Analyse erfolgte in der im Kapitel 10.6, S.81, beschriebenen Weise. Wir erhielten bei der GC-Trennung auf SE-52-Säule insgesamt acht Peaks. Davon konnten die Peaks vom RT= 3.4, 4.4 und 9.0 als die Methylester von Essig-,Benzoe- und Nicotinsäure identifiziert werden. Peaks vom RT = 19.0 mußten mit dem Salacininsäuremethylester identisch sein. Das Massenspektrum des nach GC-Trennung erhaltenen Methylesters lieferte einen Molekularpeak von m/e 179. Dieser entspricht dem aus dem ^{1}H-NMR-Spektrum von Salacinin A abgeleiteten α-(4-Pyridyl)-isobuttersäure-Methylester, $C_{10}H_{13}O_2N$.
Das Fragmentierungsmuster dieses Esters zeigte Massendifferenzen von m/e 15 ($-CH_3$), 31 ($-OCH_3$), 28 (-CO) und 59 (CH_3OCO-) bzw. 58 (CH_2OCO-), die für einen Carbonsäuremethylester typisch sind.

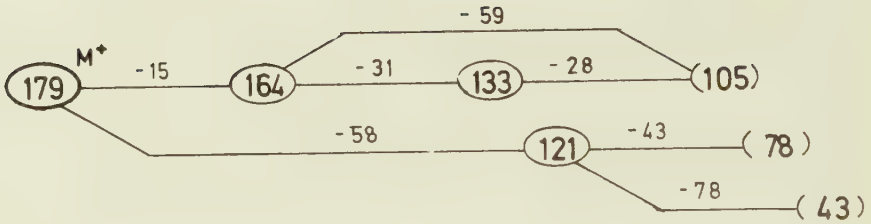


Abb. 22
Zerfallsschema von Salacininsäure

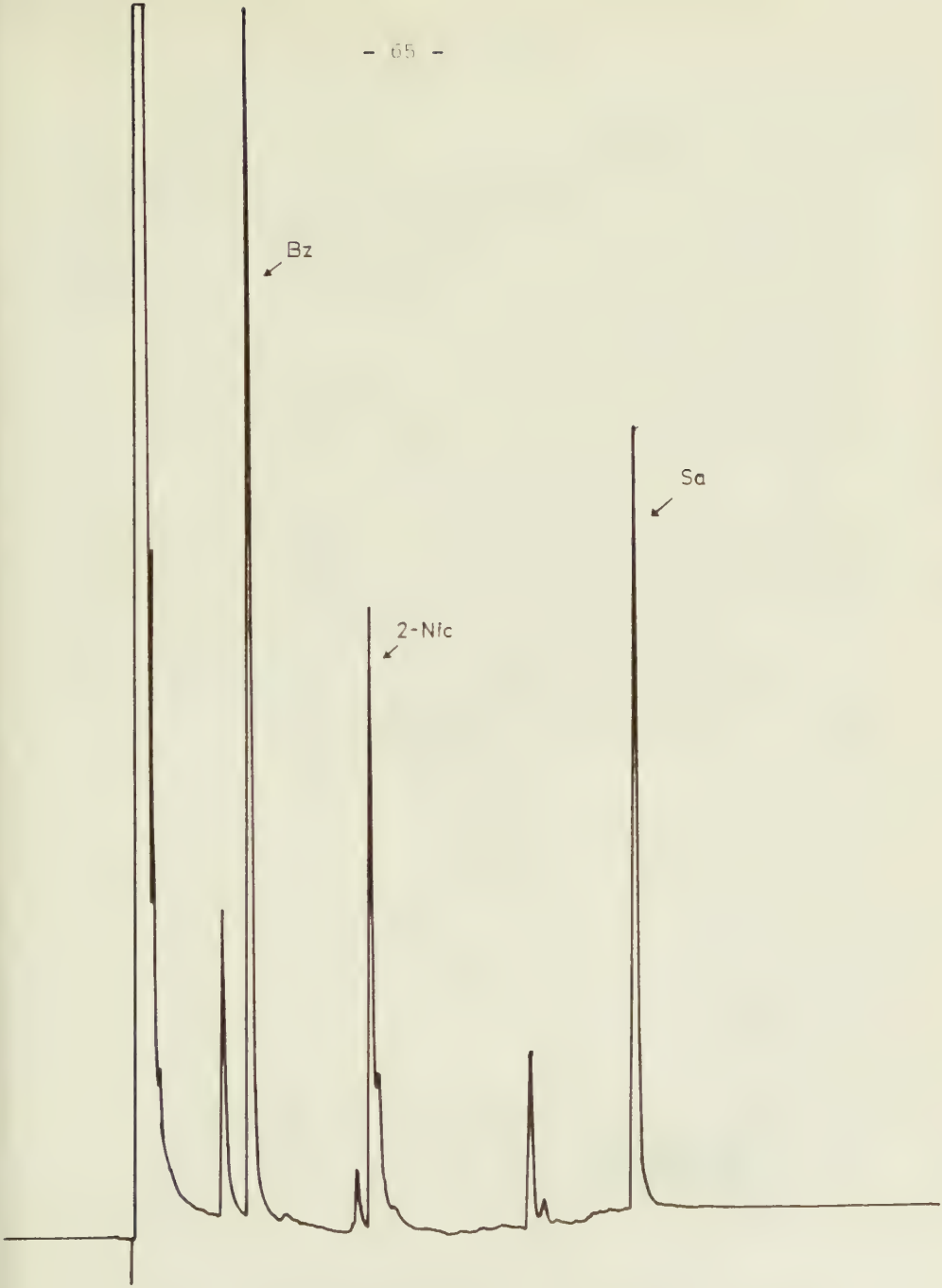


Abb. 23

GC-Analyse von dem isolierten Säure-Methylester-Gemisch

2. Salacinolpentaacetat

Die durch Hydrolyse erhaltene methanolische Phase mußte den Sesquiterpenalkohol enthalten. Im Laufmittelsystem Äthylacetat-Methanol Wasser (100:13.5:10) zeigte die Methanollösung einen Hauptfleck bei R_f = 0.35, der sich mit Vanillinschwefelsäure rot anfärbte.

Durch präparative Kieselgel-DC wurde der Terpenalkohol abgetrennt und anschließend sofort mit Essigsäureanhydrid in üblicher Weise acetyliert. Das Sesquiterpen-Acetat (Smp. = 59 - 60°) wurde massenspektroskopisch untersucht.

Ausgehend vom Molekularpeak bei m/e 512 zeigte das Spektrum eine systematische Massenabspaltung von fünf Acetylgruppen. Das danach erhaltene Signal bei m/e 233 ist charakteristisch für den Sesquiterpengrundkörper der Salacinin-Gruppe.

Die übrigen Fragmentierungen sind in Abb. 25, S.76, wiedergegeben. Damit verfügt das Sesquiterpengerüst der Salaciningruppe über fünf alkoholische Hydroxylgruppen.

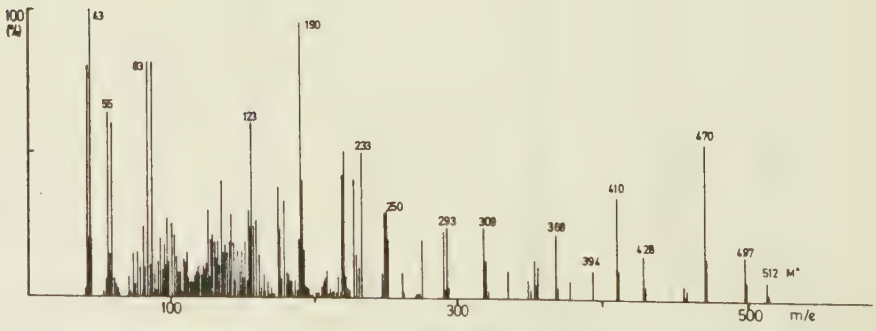


Abb. 24

Massenspektrum von Pentacetyl-Salacinol

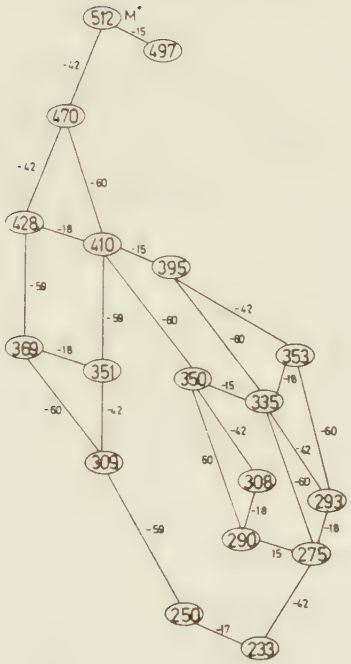


Abb. 25
Zerfallsschema von Salacinolpentaacetat

5.0 Synthese der Salacininsäure

5.1.1 Zur weiteren Bestätigung der Salacininsäure-Struktur wurde versucht, die Verbindung zu synthetisieren.

Eine Reihe von Pyridincarbonsäure, z.B. β-(4-Pyridyl)-propionsäure und γ-(4-Pyridyl)-buttersäure wurden bereits von CEJKA und Mitarb. [62] hauptsächlich durch Willgerodt-Kindler-Reaktion aus den entsprechenden Pyridylalkylketone dargestellt.

Bei der Willgerodt-Kindler-Reaktion wird die Carbonylgruppe eines Ketons zur Methylengruppe reduziert und die Methylgruppe zur Carboxylgruppe oxidiert. Dieses Verfahren dient zur Darstellung von langkettigen Arylcarbonsäuren.

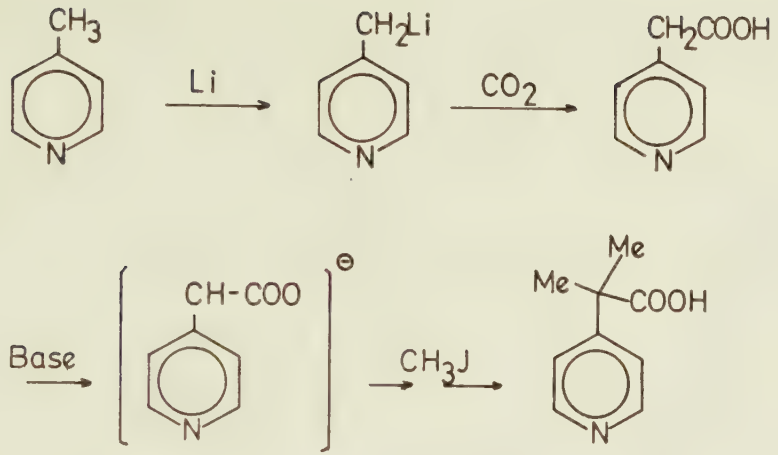
$$Ar\text{-}CO(CH_2)_n\text{-}CH_3 + (NH_4)_2S_x + H_2O \longrightarrow Ar\text{-}(CH_2)_{n+1}\text{-}COOH$$

$$Ar\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C} - CH_3 \xrightarrow[+\ NHR_2]{+\ S} Ar - CH_2 - \underset{\underset{S}{\|}}{C} - NR_2$$

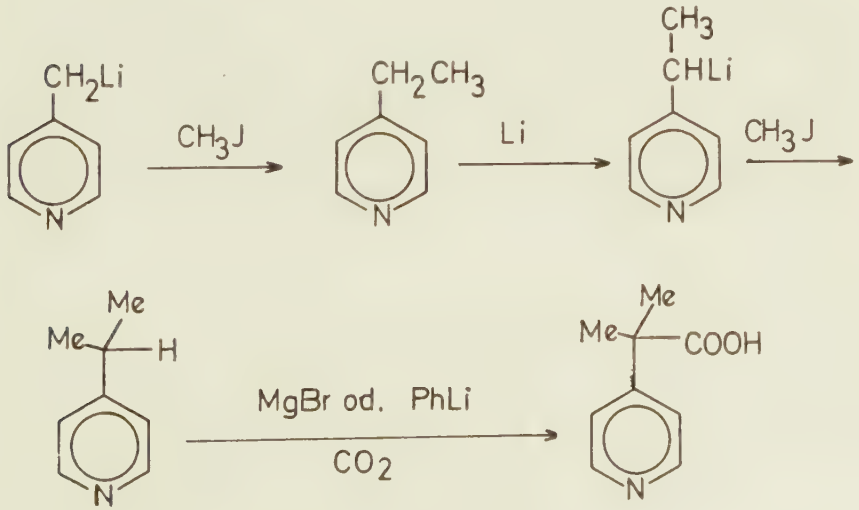
$$Ar\text{-}CH_2\text{-}\underset{\underset{S}{\|}}{C}\text{-}NR_2 + 2H_2O \longrightarrow Ar\text{-}CH_2\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}\text{-}OH + H_2S + HNR_2$$

Die Synthese der α-(4-Pyridyl)-isobuttersäure als einer tertiären Carbonsäure sollte ausgehend von 4-Methyl-Pyridin (γ-Picolin) durch Ersatz von zwei Wasserstoffatomen der Methylgruppe und übrige Methinprotone zu einer Carboxylgruppe möglich sein. Diese Substitution war auf drei Wegen denkbar.

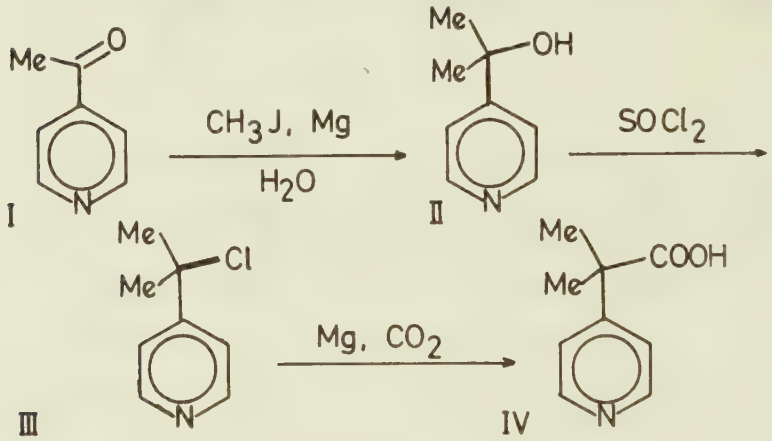
1. Durch Carboxylierung des aus γ-Picolin und Lithium darstellbaren γ-Pyridylmethyllithium zu γ-Pyridylessigsäure und nachfolgende Methylierung der γ-Pyridylessigsäure in alkalischem Medium zu dem gewünschten Endprodukt.



2. Durch Methylierung von γ-Pyridylmethyllithium mit Methyljodid zu γ-Ethylpyridin und erneute Methylierung von Ethylpyridinlithium zu γ-Isopropylpyridin, gefolgt von einer Reaktion mit Phenyllithium und Kohlendioxid oder einer Grignardierung mit Magnesiumbromid und Behandlung mit Kohlendioxid.



3. Grignardierung von 4-Acetylpyridin zu 4-Pyridylpropanol, Chlorierung dieser Verbindung mit Thionylchlorid zu 4-Pyridylisopropylchlorid und Ersatz des Chlors durch Carboxyl über eine Grignard-Reaktion.



Da die γ-Pyridylessigsäure des Reaktionsschemas 1 wegen der leicht abspaltbaren Carbonylgruppe ziemlich instabil sein dürfte und das γ-Isopropylpyridin des Reaktionsweges 2 über eine zweimalige Methylierung dargestellt werden muß, sollte der dritte Syntheseweg die praktisch günstigste Darstellungsmethode für Salacininsäure sein. Wir versuchten daher den 3. Syntheseweg.

5.1.2 Für die erste Grignard-Reaktion zum α-(4-Pyridyl)-isopropanol verwendeten wir die allgemeinen Arbeitsmethoden von GHERA und SHOUA [64] und zur Darstellung der 3,3-Diphenylbuttersäure die Chlorierungs- und Carboxylierungsvorschriften von ZIMMERMANN[73].

Zur Darstellung des α-(4-Pyridyl)-isopropanols (II) wurde 4-Acetyl-Pyridin (I) mit einer Lösung von Methylmagnesiumjodid in abs. Diäthyläther umgesetzt. Nach Bildung des 4-Pyridylethylmagnesiumjodid in der Lösung wurde mit 10%iger Kaliumchloridlösung hydrolysiert.

Während im wässrigen Milieu Magnesiumhydroxid ausfiel, blieb Substanz II als Kaliumchlorid-Komplex in Lösung. Die filtrierte wässrige Phase wurde mit gesättigter Na_2CO_3-Lösung leicht alkalisiert und mehrmalig mit Äthylacetat ausgeschüttelt. Aus den gesammelten organischen Phasen erhielt man Substanz II als weißlich-gelben Niederschlag.

Durch Umkristallisation aus abs. Diäthyläther konnten farblose klein körnige Kristalle erhalten werden, die bei 127°C sublimierten. Im Kieselgel-DC erschien im Laufmittelsystem Toluol-Cyclohexan (1:1) und nach Anfärben mit Dragendorff-Reagenz ein einziger Fleck bei R_f = 0.11. Das IR-Spektrum von Substanz II zeigt eine breite CH-Bande bei 3100 cm^{-1}.

Substanz II wurde in Benzol-Chloroform gelöst und mit Thionylchlorid in Gegenwart von Bariumcarbonat umgesetzt. Nach einstündiger Reaktion, Filtrieren und Konzentrierung der Lösung wurde eine gelbe Substanz erhalten, die als α-(4-Pyridyl)-isopropylchlorid (III) identifiziert werden konnte. Die Substanz hatte im System Toluol-EtoAc-MeOH (70:25:5) einen R_f-Wert von 0.47.

Die OH-Bande bei 3100 cm^{-1} war im IR-Spektrum der Substanz III nicht mehr vorhanden. Außerdem gab die Substanz III auf der Kieselgel-DC-Platte im Laufmittelsystem Toluol-Äthylacetat-Methanol (6:4:1) bei R_f = 0.48 eine einheitliche Zone. Dies war ein Hinweis auf den Austausch des Cl-Atoms gegen die Hydroxylgruppe.

Die Herstellung von α-(4-Pyridyl)-isobutylmagnesiumchlorid für die Darstellung des α-(4-Pyridyl)-isobuttersäuremethylesters (V) erfolgte auf ähnliche Weise wie die des Methylmagnesiumjodids.

Da die Substanz III in Diäthyläther schwer löslich war, verwendeten wir für die Grignard-Reaktion abs. Dioxan anstelle von abs. Diäthyläther. Das in Dioxanlösung gebildete α-(4-Pyridyl)-isobutylmagnesiumchlorid wurde tropfenweise auf gepulvertes Trockeneis gegeben.

Nach Entfernung des Trockeneises unter Stickstoffgas lieferte die im Vakuum eingeengte rote Dioxanlösung rote Nadeln vom Smp. 88 - 89°C, die auf Kieselgel DC-Platten im Laufmittelsystem Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) einen Hauptfleck bei R_f = 0.23 und einen kleineren Nebenfleck bei R_f = 0.19 ergaben.

Die Kristalle wurden in Chloroform gelöst und die Lösung mit 0.1%iger Salzsäurelösung ausgeschüttelt. Anschließend wurde die wässrige Phase gefriergetrocknet und die entstandene ölige Substanz in Chloroform gelöst. Diese Chloroformlösung wurde mit dem nach der Methode von SCHLIK und GELEMANN [81] hergestellten Diazomethan zur Substanz IV umgesetzt.

Der GC-Vergleich der durch Hydrolyse aus dem Terpenalkaloidgemisch erhaltenen Salacininsäure-Methylester mit dem synthetisierten Säure-Methylester bestätigt die Identität. Der Vergleich wurde unter den im Kapitel 10.6,S.81, angegebenen Bedingungen durchgeführt. Beide Säuren zeigten als Methylester die gleiche Retentionszeit von 19.0 Min.. Das eingespritzte Gemisch beider Säuren ergab einen jetzt erhöhten Peak ohne Aufspaltung.

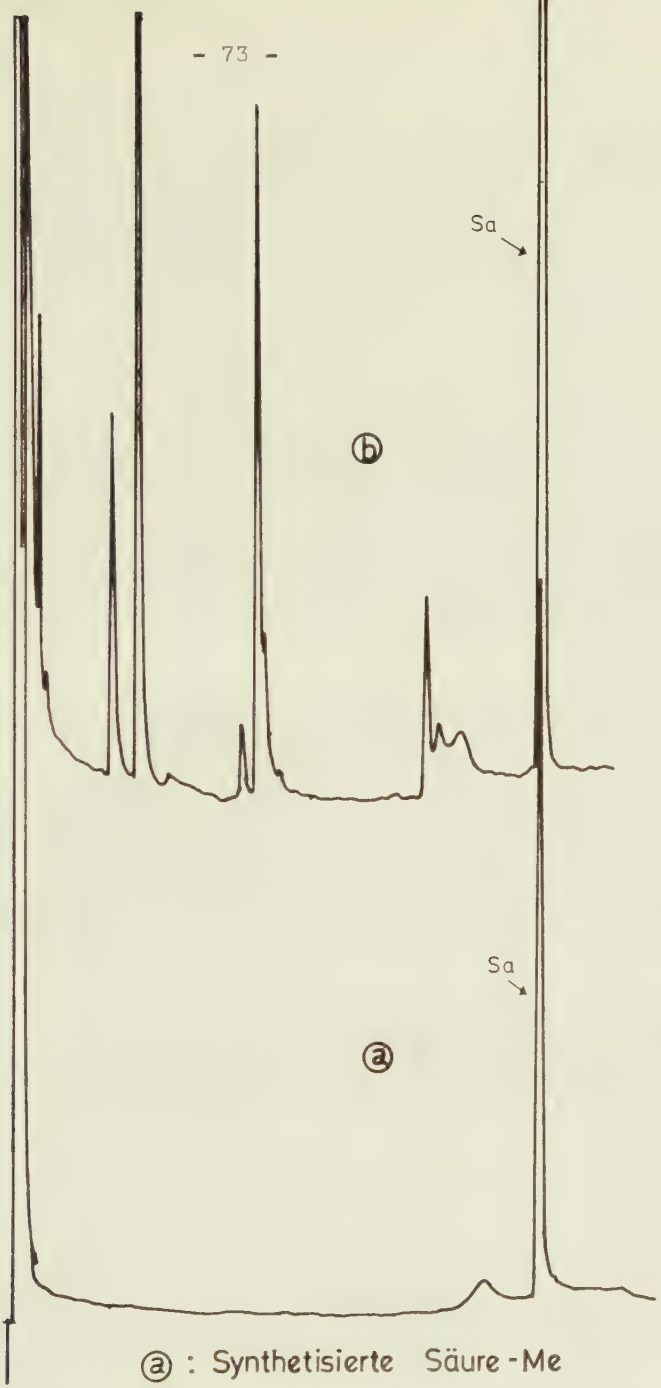


Abb. 25

GC-Vergleich von Salacininsäure-Me

6.0 Zur Pharmakologie des Rohalkaloids I

Eine eventuelle Cytotoxizität des aus dem Petrolätherextrakt erhaltenen Rohalkaloids I wurde durch den ^{3}H-Thymidin-Einbautest an Asciteszellen überprüft. Die Methodik des Verfahrens stammt von WEITZEL und SCHNEIDEN [105].

Die gefundene Hemmung der Einbaurate in einem in vitro-Versuch von nur 35.5% ist mit einem negativen Ergebnis gleichbedeutend.+)

Die neuen Salacinin-Alkaloide besitzen große Ähnlichkeit mit den Esteralkaloiden aus Celastrus paniculatus Will., für die eine tranquillierende Wirkung festgestellt worden war [33]. Eine enge strukturelle Verwandtschaft besteht auch zu den insektizid-wirksamen Alkaloiden aus Tripterygium wilfordii Hook. [101,102]. Pharmakologische Untersuchungen in dieser Richtung wurden nicht durchgeführt.

7.0 Zur Chemotaxonomie von Salacia brachypoda

Wie eingangs geschildert, hat sich DING HOU [5] bereits für eine Zusammenlegung der beiden Familien ausgesprochen. Bereits BRÜNING [106] hat durch Isolierung des auch aus Hippocratea aspera isolierten (-)-4'-O-Methylepigallo-Catechin ein weiteres Indiz für die Richtigkeit dieses Vorschlages beibringen können.

Die Isolierung der für die Celastraceenfamilie charakteristischen Agarofuran-Esteralkaloide, auch aus Salacia brachypoda, ist ein weiterer Beweis für die enge Verwandtschaft von Hippocrateaceen und Celastraceen.

+) Sie wurde am Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität München von Frau Dr.K.Jurcic durchgeführt.

8.0 Zusammenfassung

Die in Brasilien als Abführtee verwendete Samendroge von Salacia brachypoda Peyr. (Hippocrateaceae) wurde wegen ihrer chemotaxonomischen und botanischen Verwandtschaft mit der Celastraceen-Familie einer phytochemischen Untersuchung unterzogen.

Nachdem eine orientierende Voruntersuchung die Anwesenheit von Terpenesteralkaloiden wahrscheinlich gemacht hatte, gelang es durch Einsatz klassischer und chromatographischer Verfahren vier Verbindungen rein zu isolieren.

Die Strukturaufklärung der als Salacinin A, B, C und T bezeichneten Verbindungen erfolgte mit Hilfe spektroskopischer Verfahren, insbesondere durch ^{1}H-NMR-, ^{13}C-NMR- und Massen-Spektroskopie.

Alle vier Verbindungen leiten sich von dem gleichen Terpengrundalkohol, dem Salacinol, ab. Salacinol konnte als ein 1 β, 2 β, 6 β, 8 β, 15-Pentahydroxy-5,11-Epoxi-7-epieudesman identifiziert werden.

Das Sesquiterpenpentaol unterscheidet sich damit deutlich von den aus Catha edulis isolierten Pentaolen Cathedulin-E2 und E8, deren OH-Gruppen eine andere Stellung am Agarofurangrundskelett einnehmen.

Salacinin A enthält als veresternde Säuren Essigsäure, Benzoesäure und eine bisher unbekannte Pyridincarbonsäure, die α-(4-Pyridyl)-isobuttersäure (Salacininsäure). Die Struktur wurde durch die Synthese und GC-MS-Analyse ausgehend von 4-Acetyl-Pyridin gesichert.

Salacinin A ist damit 8,15-Diacetyl-1-benzoyl-2-salacinoyl-Salacinol.

Salacinin B enthält ebenfalls Benzoesäure und Salacininsäure und anstelle von Essigsäure nur n-Octansäure.

Salacinin C enthält nur eine 2-Pyridincarbonsäure und ist damit 8,15-Diacetyl-1-benzoyl-2-Nicotinoyl-Salacinol.

Salacinin T ist Stickstoff-frei und hat die Struktur 8,15-Diacetyl-1-Benzoyl-Salacinol.

Mit der Entdeckung von Terpenesteralkaloiden in einer Salacia-Art ist der bereits von anderer Seite gemachte Vorschlag einer engen Verwandtschaft von Hippocrateaceae und Celastraceen erneut bekräftigt.

Durch die Isolierung von vier neuen Verbindungen mit einem bisher nicht bekannten Terpenalkohol und einer neuen Pyridincarbonsäure wurden unsere Kenntnisse über Celastraceen-Inhaltsstoffe wesentlich erweitert.

EXPERIMENTELLER TEIL

9.0 Herkunft der Drogen

Die Samen von Salacia brachypoda Peyr., Castanha mineria wurden von der Export-Firma "Transcontinental comercio e transportes Ltda., Rio de Janeiro, Brasil" im Februar 1978 bezogen.

Für die freundliche Anfertigung der Habituszeichnung dieser Pflanze danken wir Frau Dr.N.K.B.Robson und ihrem Studenten Herrn Michael Harlow vom Britischen Museum (Natural History)London.

Vergleichsmuster der Droge sowie ein Herbariumexemplar finden sich unter dem Titel "Salacia brachypoda" in der Drogensammlung des Instituts für Pharmazeutische Biologie in München (Herbar Nr. 030378).

10.0 Allgemeine Arbeitsmethoden

10.1 Fällungsreagenzien für Alkaloide

a) Valsers Reagenz auf Alkaloide

10 g Kaliumjodid werden in 100 ml Wasser gelöst und unter Rühren ca. 15 g Quecksilber-II-jodid zugegeben. Die Mischung wird solange gerührt, bis fast das ganze Quecksilberjodid gelöst ist und dann filtriert.

Test: Zu etwa 1 - 2 ml der sauren, wässrigen, alkaloidhaltigen Lösung werden 1 - 3 Tropfen Valsers Reagenz gegeben. Die Reaktion ist dann positiv, wenn eine Trübung oder ein weißer Niederschlag auftritt.

b) Mayers Reagenz

1.358 g Quecksilber-II-chlorid werden in 60 ml Wasser gelöst und in eine Lösung aus 5 g Kaliumjodid in 10 ml Wasser gerührt. Die Lösung wird auf 100 ml mit Wasser verdünnt.

Test: Die Anwesenheit von alkaloidhaltigem Material ist dann gegeben, wenn 0.5 - 1 ml einer wässrigen, sauren Lösung mit 1 - 2 Tropfen Mayers Reagenz einen Niederschlag ergeben.

10.2 Dünnschichtchromatographie

10.2.1 Adsorbentien

a) Alkaloide, Sesquiterpenalkohol,
Kieselgel 60 F_{254} DC-Fertigplatten der Fa.Merck,
20 x 20 cm, Schichtdicke 0.25 mm
Kieselgel 60 F_{254} DC-Fertigplatten der Fa.Merck,
20 x 20 cm, Schichtdicke 0.5 mm
Kieselgel 60 F_{254} HPTLC-Fertigplatten der Fa.Merck,
10 x 20 cm, für nano-DC

b) Zwischenverbindungen der Salacininsäure-Synthese
Cellulose F DC-Fertigplatten der Fa.Merck,
20 x 20 cm, Schichtdicke 0.10 mm

10.2.2 Laufmittel

a) Alkaloide
Cyclohexan-Chloroform-Dimethylamin (5:4:1)
Dichlormethan-Äthylacetat-Äthanol (66:44:5)
Benzol-Äthylacetat (1:1)
Isopropyläther/NH_3-Dichlormethan-Äthylenglykolmonoäthyläther (70:28:2)
Isopropyläther/NH_3-Dichlormethan-Dimethylenglykolmonoäthyläther (70:28:2)
Isopropyläther/NH_3-Dichlormethan-Äthanol (70:28:5)

b) Sesquiterpenalkohol
Äthylacetat-Methanol-Wasser (100:13.5:10)

c) Zwischenverbindungen der Salacininsäure-Synthese und Salacininsäure
Toluol-Äthylacetat-Wasser (6:4:1), Toluol-Äthylacetat-Methanol (70:25:5), Isopropanol-H_2O (7:3)

10.2.3 Sprühreagenzien

a) Alkaloide und Salacininsäure
Dragendorffs Reagenz nach MUNIER und MACHDOEUFF [30]
Lsg. (a) 0.85 g bas.Wismutsubnitrat werden in 10 ml Eisessig und 40 ml Wasser gelöst.

Lsg. (b) 8 g Kaliumjodid werden in 20 ml Wasser gelöst.
Vorratslösung: gleiche Volumina der Lsg. (a) und (b) werden gemischt.
Sprühlösung: 10 ml Vorratslösung und 20 ml Eisessig werden mit Wasser auf 100 ml gemischt.

Dragendorffs Reagenz nach RUBIA und GOMEZ [79]
100 ml einer 40%igen wässrigen Kaliumjodidlösung werden mit 100 ml einer 1.7%igen Lösung von Wismutnitrat in 20%iger Eisessigsäure gemischt und mit 10%iger Schwefelsäure zu 1000 ml aufgefüllt. Zu dieser Lösung werden 20 g Jod gegeben.
Nachbehandlung: Zur Steigerung der Nachweisempfindlichkeit kann nach Luftrocknung der Platten eine 10%ige wässrige Natriumnitritlösung zum Nachbesprühen verwendet werden.

b) Terpenester und Sesquiterpenalkohol

1. Vanillin-Schwefelsäure (modifiziert)
   3 g Vanillin werden in 3 ml Schwefelsäure (conc.) gelöst und mit Äthanol auf 100 ml aufgefüllt.
   Nachbehandlung: 10 min bei 110°C erhitzen.

2. Liebermann-Burchard Reagenz
   5 ml Essigsäureanhydrid und 5 ml conc.Schwefelsäure werden vorsichtig und unter Kühlung gemischt. Das Gemisch wird unter Kühlung zu 50 ml Äthanol aufgefüllt. Frisch bereiten !
   Nachbehandlung: 10 min auf 110°C erhitzen.

10.3 Alkaloidscreening

50 g gepulverte und mit wenig ammoniakalischem Äthanol mazerierte Droge wurde mit 500 ml Petroläther im Soxhletapparat 8 Stdn. extrahiert.

Der filtrierte Petrolätherextrakt (ca. 450 ml) wurde mit 200 ml und 3 x 100 ml 1N-HCl-Lösung ausgeschüttelt. Anschließend wurde mit gesättigter Na_2CO_3-Lösung bis zu pH 7.5 - 8.0 alka-

lisiert und mit 200 ml, 3 x 100 ml Diäthyläther ausgeschüttelt.

Nach dem Einengen der gesammelten ätherischen Lösung resultierte ein gelber öliger Rückstand. Davon wurden ca. 10 mg in 3 ml Dichlormethan gelöst und zu je 10 µl auf 0.25 mm Kieselgel-Platten GF_{254} (Merck) aufgetragen.

Nach der Untersuchung unter dem UV-Licht (263 nm) wird die DC-Platte mit Dragendorff-Reagenz besprüht. Das Auftreten von gelb bis orangeroten Flecken zeigt eine positive Alkaloid-Reaktion an.

Zur weiteren Bestätigung wurde ca. 1 mg Probesubstanz in 1 ml Dichlormethan gelöst und mit Mayers- bzw. Valsers-Reagenz getestet. Eine weiße Trübung oder ein weißer Niederschlag sprechen für das Vorliegen von Alkaloiden.

10.4 Präparative Dünnschichtchromatographie

Die in Dichlormethan gelösten Substanzen wurden strichförmig auf 0.25 mm bzw. 0.5 mm Kieselgelfertigplatten GF_{254} der Fa. Merck aufgetragen. Zur Feintrennung bzw. Reinigung wurden HPTLC-Platten der Fa.Merck benutzt.

Nach einfacher oder mehrfacher Entwicklung in den jeweiligen Laufmittelsystemen bis zur genügenden Trennung wurden die unter UV-Licht erkennbaren Zonen markiert und ausgeschabt. Bei größeren Mengen wurden diese im Mörser verrieben und in einen Erlenmeyerkolben gefüllt. Das Substanzgemisch wurde mit dem Elutionsmittel versetzt und einige Zeit am Magnetrührer gerührt. Anschließend wurde durch eine G4-Fritte filtriert, mit dem Elutionsmittel eluiert und damit nachgewaschen. Als Elutionsmittel wurde üblicherweise Chloroform-Methanol (78.2:21.2) verwendet. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer zur Trockne eingeengt, dünnschichtchromatographisch auf Reinheit geprüft und zum Kristallisieren aufgestellt.

10.5 Säulenchromatographie

Als Adsorbens wurden zwei Sorten Kieselgel verwendet.
a) Kieselgel 60 Merck (Korngröße: unter 0.063 mm)
b) Kieselgel 60 Merck (GF_{254} für DC)

Die Säulen wurden naß gepackt und zur besseren Sedimentierung des Kieselgels mit Elutionsmittel mehrstündig laufen gelassen.

Vor dem Auftragen wurde noch einige Stdn. Elutionsmittel durchgetropft, wobei die Füllhöhe konstant bleiben mußte. Das Eluat wurde üblicherweise an einem automatischen Fraktionssammler in Reagenzgläsern aufgefangen und Fraktionen mit gleichen DC-Bild vereinigt.

Für die Adsorbensmittel b) benutzten wir eine besonders lange Säule, ca. 150 cm, um einen höheren Druck zu erreichen. Diese modifizierte Säulenchromatographie hat den Vorteil, daß das zur Dünnschichtchromatographie benutzte Laufmittelsystem direkt auf die Säule übertragen werden kann.

10.6 Gaschromatographie

Die Gaschromatographie der Methylester aus der partiellen Hydrolyse (siehe Abschnitt 12.0, S. 85) und der synthetisierten Substanzen wurde mit einem Perkin-Elmer-Gaschromatographen, Modell 3920, durchgeführt.

Trägermaterial:	3% SE 52 auf Chromorb W-AW-DMCS, 80 - 100 mesh.
Temperatur:	70° - 280° linear
Trägermaterial:	Argon
Papiervorschub:	5 mm/min
Gasdurchfluß:	40 ml/min
Einspritzmenge:	3 - 5 µl

10.7 Auskristallisation nach dem System der Isothermen-Destillation

Von der jeweiligen Substanz wurde mit dem geeigneten Lösungsmittel eine konzentrierte Lösung hergestellt und diese in eine Erlenmeyer-Flasche gegeben. Diese wurde in ein Becherglas gestellt, dessen Boden bis zu einer Höhe von ca. 0.5 cm mit dem zweiten Lösungsmittel (z.B. n-Hexan) bedeckt war, und mit einer Silberfolie abgedeckt. Das "äußere" Lösungsmittel sollte leicht verdampfen und für die Substanz keine gute Lösungseigenschaft besitzen. Als "inneres" Lösungsmittel wurde Diäthyläther, als "äußere" Phase n-Hexan verwendet.

Die aus den DC-Platten extrahierten Substanzen wurden in Vakuum eingeengt und bis zur weißen Trübung mit n-Hexan versetzt. Nach ca. einer Woche im Kühlschrank bildeten sich die Kristalle.

10.8 Physikalisch-chemische Untersuchungen

Schmelzpunkte: Die Schmelzpunkte wurden auf einer Mikroheizplatte nach Kofler der Fa.Reichert, Wien, bestimmt und sind nicht korrigiert.

Elementaranalyse: Die Mikro-CHN-Verbrennungsanalysen nach PREGL erfolgten im "CHN-Analysator 185" der Fa.Hewett-Packard.

Optische Drehungen: Die Drehungen wurden in Chloroform am lichtelektrischen Polarimeter LEP A2 der Fa.Zeiss gemessen.

UV-Spektrum: Die UV-Spektren wurden im Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität München in Garching mit einem Spektralphotometer MG der Fa.Perkin-Elmar aufgenommen

IR-Spektren: Die IR-Spektren wurden mit den Infrarotspektrophotometern IR-8 und Acculab-1 der Fa.Beckman aufgenommen.

Massenspektren: Die Massenspektren wurden an den Instituten für Pharmazeutische Biologie und für Organische Chemie der Universität München mit einem MS-30- bzw. MS-902-Massenspektrometer (Hochauflösung) der Fa.AEI aufgenommen.

^{1}H-NMR-Spektren: Die Protonkernresonanzmessungen wurden mit folgenden Geräten durchgeführt: Varian XL-60 und Bruker WP-90 am Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität München. Bruker WP-250 und WP-400 im Laboratorium der Fa. Bruker, Karlsruhe.

GC-MS-Spektren: Die GC-MS-Spektren wurden mit einem Helwlett-Packard Modell 5995 A bei einem HP H 9825 A Tischcomputer aufgenommen.

11.0 Isolierungen

11.1 Isolierung des Rohalkaloidgemisches

3 kg grob gepulverte Samen wurden 48 Stdn. in einer Soxhletapparatur mit Petroläther extrahiert. 6 l des Petrolätherextraktes ergaben nach Einrotieren am Rotationsverdampfer eine gelbe, ölige Extraktmenge von ca. 1 l. Dieses Öl wurde in 2 l n-Hexan aufgenommen und filtriert, um liphophile Stoffe zu entfernen.

Die Filtrate wurden im Scheidetrichter solange mit 1 N-HCl geschüttelt, bis eine Probe der salzsauren Auszüge mit Valsers Reagens versetzt, nur noch eine schwache Trübung bzw. Opaleszenz hervorrief. 4.2 l der gesammelten HCl-Auszüge wurden mit ges. Na_2CO_3-Lösung auf pH 7 - 8 eingestellt. Dabei entstand ein flockiger Niederschlag bzw. eine Trübung.

Die ausgefallenen Basen wurden mit Diäthyläther (10mal mit je 500 ml) ausgeschüttelt, die vereinigten Ätherauszüge mit wenig Wasser gewaschen und mit $MgSO_4$ getrocknet. Die filtrierten, unter Vakuum bis zur Trockne eingeengten Ätherlösungen, ergaben ca. 15 g einer grünlich gelbe, klebrigen Substanz (Rohalkaloidgemisch I).

11.2 Säulenchromatographie des Rohalkaloidgemisches

350 g Kieselgel 60 (Fa.Merck) wurden mit Hilfe des Elutionsmittels Chloroform-Methanol (95:5) in eine Säule von ca.

100 cm Länge und 5.5 cm Durchmesser gepackt. 5 g in ca. 10 ml Elutionsmittel gelöstes Rohalkaloidgemisch I wurden aufgetragen und die Fraktionierung a 15 ml mit einer Tropfgeschwindigkeit von ca. 0.4 ml/min durchgeführt.

Die Fraktion, in denen die Substanz D3 und D4 angereichert vorlagen, wurden vereinigt. Sie ergaben ca. 1.5 g einer gelblich-weißen Substanz (Sub. D3/4).

Die weitere Trennung erfolgte an einer zweiten Säule (2.5 x 150 cm) mit 50 g Kieselgel 60 GF_{254} (für DC) als Adsorbens. Als Elutionsmittel wurde Dichlormethan-Äthylacetat-Ethanol (66:44:5) verwendet. Nach dem Auftragen der in 15 ml Elutionsmittel gelösten Substanzen (1.5 g) wurde mit einer Tropfgeschwindigkeit von ca. 1.5 ml/7 min eluiert. Aus den Fraktionen von 85 bis 109 erhielten wir 800 mg einer weißen Substanz G5. Die Fraktionen von 112 bis 120 und von 136 bis 142 ergaben Substanz G6 (ca. 15 mg) und Substanz G9 (ca. 19 mg). Diese Auftrennung wurde nochmal mit je 5 g Rohalkaloid I wiederholt.

1.3 Feintrennung des Alkaloides

a) Salacinin A

400 mg der aus der Säulenchromatographie erhaltenen Substanz G5 wurde auf 0.5 mm 40 DC-Fertigplatten (Kieselgel GF_{254}) aufgetragen und aufgetrennt. Als Laufmittel wurde Isopropyläther-Dichlormethan-Ethanol (70:28:2) benutzt. Es resultierten vier Zonen; S1, S2, S3 und S4.

Die Hauptzone, S2 (R_f = 0.35) wurde ausgeschabt und mit Chloroform-Methanol (78.2:21.2) eluiert. Nach dem Einengen wurde die Substanz schließlich auf 10 HPTLC-Fertigplatten (0.25 mm, Kieselgel GF_{254} für nano-DC, Fa.Merck) aufgetragen. Es entstanden im Laufmittelsystem Isopropyläther/NH_3-Dichlormethan-Ethanol (70:28:2) zwei Zonen, eine Hauptzone bei R_f = 0.32 und eine Nebenzone bei R_f = 0.38. Aus der wie oben beschriebenen Weise isolierten Hauptzone erhielten wir 30 mg des gereinigten Salacinin A. Die weitere Isolierung ergab ca. 35 mg Salacinin A.

b) Salacinin B

Die bei der Isolierung von Salacinin A aufgetretene Zone S3 (R_f = 0.43) wurde auch ausgekratzt und mit Chloroform-Methanol (78.2:21.2) eluiert. Die im Laufmittelsystem Isopropyläther/NH_3-Dichlormethan-Äthylenglykolmonomethyläther (70:28:2) erschienene Nebenzone von Substanz S3 wurde durch präparative Chromatographie auf 0.25 mm DC-Kieselgelplatten abgetrennt. Da auf HPTLC-Fertigplatten diese Nebenzone immer noch zu erkennen war, wurde die Substanz S3 noch einmal über diese Platten gereinigt, wobei dasselbe Laufmittel wie oben verwendet wurde. Daraus ergab sich 7 mg Salacinin B. Durch die wiederholte Isolierung erhielten wir noch ca. 8 mg Salacinin B.

c) Salacinin C und T

Die aus der zweiten Säulenchromatographie isolierten Zonen G6 und G9 ergaben die Substanzen Salacinin C und Salacinin T. 9 mg Salacinin C erhielten wir, wie bei Salacinin A und B, durch weitere Auftrennung auf 0.25 mm DC-Kieselgelplatten (10 Stück, 10 x 20 cm, Laufmittelsystem: Isopropyläther-Dichlormethan-Ethanol (70:25:5)). 11 mg nadelförmiges Salacinin T erhielten wir nach Kristallisation der Substanz G9 aus Diäthyläther.

Zur Nachisolierung für Salacinin C und T wurde 460 mg Substanz D3/4 auf 40 Stück 10 x 20 cm Kieselgel-Fertigplatten der Schichtdicken 0.5 mm im Laufmittelsystem Isopropyläther-Dichlormethan-Ethanol (70:25:5) aufgetrennt. Die Zonen G6 (Salacinin C) und G9 (Salacinin T) traten bei R_f = 0.65 und 0.85) auf. Daraus erhielten wir weitere 7 mg Salacinin C und 9 mg Salacinin T.

12.0 Partielle Hydrolyse, Isolierung des Salacinols und der Salacininsäure

a) Partielle Hydrolyse

50 mg Rohalkaloidgemisch wurde in 2 ml wasserfreien Methanol gelöst und einige Tropfen 10%igen Natriummethylats dazugegeben.

Nach dreitägigem Stehen bei Raumtemperatur wurde die Methanollösung mit Eisessig neutralisiert und 2 ml Wasser dazugegeben. Die bis zur pH 6.5 - 7.5 neutralisierte Lösung wurde mit Chloroform (3 x 5 ml) extrahiert.

b) Isolierung des Salacinols

Die hydrolisierte wässrige Phase wurde zunächst am Rotationsverdampfer eingeengt und dann durch Gefriertrocknung völlig wasserfrei gemacht (-70°C, 1 x 10^{-1} Torr, 12 Stdn., Ausbeute 12 mg).

Die getrocknete Substanz wurde in wenig Methanol gelöst, auf 4 DC-Fertigplatten (Schichtdicke: 0.25 mm) aufgetragen und im Laufmittelsystem Äthylacetat-Methanol-Wasser (100:13.5:10) aufgetrennt. Die Zone 3, R_f = 0.39, wurde ausgeschabt und mit Methanol extrahiert. Wir erhielten 10 mg Salacinol in Form eines gelblichen Öls.

c) Acetylierung des Salacinols

10 mg gelbölige Substanz (Salacinol) wurde in ca. 1.5 ml wasserfreiem Pyridin gelöst und 2 - 3 Tropfen Acetanhydrid dazugegeben. Nach drei Tagen bei Raumtemperatur wurde die Pyridinlösung mit DC untersucht, mit 2 ml Wasser versetzt und mit 3mal 3 ml Chloroform der acetylierte Anteil extrahier. Die Chloroform-Phase wurde eingeengt und durch 2 DC-Fertigplatten (0.25 mm, Kieselgel) in Laufmittelsystem Äthylacetat-Methanol-Wasser (100:13.5:10) aufgetrennt. Die obere Hauptzone bei R_f = 0.85 wurde ausgeschabt und mit Chloroform extrahiert (Ausbeute: 12.5 mg).

d) Isolierung der Salacininsäure

Die bei der Hydrolyse erhaltene Chloroform-Phase wurde durch Gaschromatographie in der im Kapitel 10.6, S. 81, angegebenen Weise getrennt. Bei dieser GC-Trennung mit einer SE-52 gepackten Glassäule wurde Salacininsäure-Methylester mit der Retentionszeit von 19.0 min erhalten. Bei der Kapillarsäulen GC-MS-Kombination (HP Modell 5995 A) konnte der Ester mit einer Retentionszeit von 3.0 min und mit dem entsprechenden Molekularpeak von m/e 179 identifiziert werden.

Die Versuchsbedingungen waren:

CONDITIONS FOR RUN
CAPILLARY CONDITIONS:
Injection Temp. = 70 des. Nait = 1.0 min
Ramp Rate = maximum Inject Mode Time = 0.5 min Flush Mode Time = 0.5 min

TEMP1	TIME1	RATE	TEMP2	TIME2
Des.	min.	Des/min.	Des.	min.
90	1.0	16.0	230	32.0

INJ.PORT	MAX.OVEN	SOLVENT	RUN TIME
Des.	Des.	min.	min.
250	250	2.0	32.0

MS PEAK DETECT THRESHOLD = 10.0 linear counts
FLOW RATE = 2 ml/min.
SAMPLES PER .1 AMU = 4 SCAN SPEED = 380 amu/sec
ELECTRON MULTIPLIER = 2400 volts
GC PEAK DETECT THRESHOLD= 500 TRIGGERED ON TOTAL ABUNDANCE

13.0 Synthese des α-(4-Pyridyl)-Isobuttersäuremethylesters

13.1 Darstellung des α-(4-Pyridyl)isopropanols

Zu 1.2 g Magnesium-Späne in 100 ml abs. Diäthyläther wurde tropfenweise eine Lösung von 50 mmol Methyljodid in 25 ml abs. Diäthyläther gegeben. Die Zugabe einiger Tropfen CCl_4 setzt die Reaktion in Gang.

Nach Auflösung aller Magnesium-Späne wird eisgekühlte Lösung von 40 mmol 4-Acetylpyridin (EGA-Chemie, Steinheim) in 100 ml abs. Diäthyläther tropfenweise unter Rühren hinzugegeben. Anschließend wird die Mischung bei Raumtemperatur 24 Stdn. gerührt und danach 100 ml 10%ige Kaliumchloridlösung hinzugegeben.

Die Fraktionierung wurde wie folgt durchgeführt. Die nach Zugabe der KCl-Lsg. gebildete wässrige Phase wurde mit gesättigter Na_2CO_3-Lösung bis zu pH 7.5 leicht alkalisiert und mit 3mal 30 ml Äthylacetat ausgeschüttelt. Die gesammelten Äthylacetat-Auszüge ergaben durch Einengung unter Vakuum 3.5 g Substanz II, α-(4-Pyridyl)-isopropanol (Ausbeute: 63.8%) in Form kleinkörniger Kristalle durch Umkristallisation aus abs. Diäthyläther. Die Substanz sublimierte bei 127°C.

DC: R_f = 0.32 (Kieselgel GF_{254}, Laufmittelsystem; Toluol-Äthylacetat-Methanol (6:4:1))

IR: (cm^{-1}, KBr): 3100 (br. -OH), 2990, 1600 (Pyridyl-N), 1550, 1490, 1470, 1400, 1370, 1350 ($(CH_3)_2$-), 1235, 1170 (-CN-), 1100, 1080, 1060, 1000, 955, 825, 830, 750, 735, 615

13.2 Darstellung des α-(4-Pyridyl)-isopropylchlorids

Ca. 2 g Substanz II wurden in 30 ml Benzol und 15 ml Chloroform gelöst und 15 mmol Thionylchlorid p.a. und ca. 1 g Bariumcarbonat hinzugegeben.

Nach zweistündigem Erhitzen bei 70 - 80°C unter Rückfluß wurden nach Abdestillation des Lösungsmittels 2.24 g α-(4-Pyridyl)-isopropylchlorid in Form einer sirupösen Substanz erhalten (III, Ausbeute 98.7%).

DC: R_f = 0.48 (Trennbedingung: wie 13.1, S.88)

IR: (cm^{-1}, $CHCl_3$): 2985, 2780 (-CH-), 1635, 1620, 1600 (Pyridyl-N), 1500, 1460, 1450, 1380, 1360 ($(CH_3)_2$-), 1250, 1200, 1130, 1090, 1045, 1000, 950 (-CCl-), 820, 750

13.3 Darstellung des α-(4-Pyridyl)-isobuttersäuremethylesters

1.5 g Substanz III wurden in 10 ml über Molekularsieb 5 Å (Merck) getrocknetem Dioxan gelöst und zusammen mit 27 mg Magnesium-Spänen über Nacht bei 40°C unter Rückfluß erhitzt. Die gekühlte Mischung wurde danach tropfenweise auf gepulvertes Trockeneis gegeben. Nach Verdunstung des Trockeneises unter N_2-Gas wurde die Dioxanlösung mit 0.1%iger HCl-Lösung extrahiert. Nach der Gefriertrocknung der wässrigen sauren Phase erhielt man α-(4-Pyridyl)-isobuttersäure als ölige Substanz (IV, 330mg, Ausbeute: ca. 20%).

Die Methylierung erfolgte in wesentlichen nach der von SCHLENK und GELLERMANN [81] angegebenen Mikromethode. Verwendet wurden drei miteinander verbundene Gaswaschflaschen. Zylinder I war an eine Stickstoff-Bombe angeschlossen und mit etwa 30 ml Äther gefüllt. In Zylinder III befand sich 3 mg Substanz VI gelöst in 3 ml Äther und 1 ml Methanol.

Die Gaswaschflasche II wurde mit 10 ml 60%iger KOH-Lösung, 5 ml Äthylenglykolmonoäthyläther und 7 ml Äther beschickt. Es bildet sich ein Zweiphasensystem. Nach Zugabe von N-Methyl-N-nitroso-p-toluylsulfonamid in Flasche II bildet sich Diazomethan an der Phasengrenze. Diazomethan wird in Flasche III geleitet. Eine Beendigung der Reaktion wird durch die gelb gefärbte Ätherlösung angezeigt.

α-(4-Pyridyl)-isobuttersäure (Salacininsäure)

gelbliches Öl

DC: R_f = 0.27 (Kieselgel GF_{254}, Laufmittelsystem: Butanol-Essigsäure-Wasser (4:1:5), Detektion: Dragendorff-Reagenz)

IR: (cm^{-1}, $CHCl_3$): 3620, 3450 (-OH), 2980, 2880, 1710, 1450, 1410, 1360, 1350 ($(CH_3)_2$-), 1200, 1140, 1100, 1060, 820

^{1}H-NMR (90 MHz, δ = ppm, $CDCl_3$): 1.38 s (x 2 CH_3), 4.45 s (br., -OH), 7.27 dd, 8.35 dd (J = 6.75 und 2.25 Hz, p-subst.Pyridin)

Salacininsäure-Methylester

GC: Retentionszeit: 19.0 min (Trennbedingungen: Kapitel

DC: R_f = 0.56 (Kieselgel GF_{254}, Laufmittelsystem: n-Hexan-Äthylacetat (85:15), Detektion: Jod-Dampf bzw. Dragendorff Reagenz)

14.0 Physikalische Daten isolierter Verbindungen

14.1 Salacinin A $C_{35}H_{43}O_{10}N$ M^+: 637.2887 MS

hochaufl. MS: gef. 637.295 amorph MS, Smp: 92 - 95°

DC: R_f = 0.35 (Trennbedingungen, siehe Kapitel 11.3 a), S. 84)

UV: λ_{max} (ε): 227 (13165, 251 (Sch.), 258 (530), 264 (619), 270 (663), 281 (663) nm in EtOH (c = 2.825 x 10^{-5}M)

IR: (cm^{-1}) 3450, 2930, 1745, 1720, 1600, 1580, 1440, 1390, 1360, 1260, 1220, 1160, 1100, 1070, 1010, 975, 945, 845, 750

MS (rel.Int.%): 637 (M^+, 8), 622 (2), 619 (1), 577 (2), 560 (1), 516 (10), 490 (12), 472 (5), 456 (12), 397 (2), 368 (2), 352 (5), 335 (6), 308 (3), 293 (4), 270 (5), 248 (8), 236 (6), 231 (10), 219 (8), 217 (6), 203 (5), 190 (14), 151 (10), 106 (100), 105 (39), 79 (3), 78 (2), 77 (7), 43 (14)

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) (Mult., J (Hz)): 0.90 (d, 7.5) = 3H-14; 1.37 (s) = 3H-12; 1.49 (s) = 3H-13; 1.59 (s) = 6H-3",4"; 1.75 (m) = 2H-3; 2.03 (s) = Ac; 2.25 (s) = Ac; 2.18 (m) = 2H-4; 2.24 (d, 3.0) = 1H-7; 2.69 (m) = 2H-9; 4.45 (dd, 3.0, 8.0) = 1H-8, HO-; 4.65 (d, 12.0) = 1H-15^1; 4.85 (d, 12.0) = 1H-15^2; 5.29 (dd, 3.0, 9.5) = 1H-6; 5.68 (dd, 5.0, 11.0) 1H-2; 6.18 (s) = 1H-1; 7.27 (m) = 1H-6", 1H-8"; 7.36 (m) = 1H-7", 1H-9"; 7.40 (t, 6.0) = 1H-5'; 7.52 (t, 6.0) = 1H-4', 1H-6'; 8.01 (dd, 6.0, 1.0) = 1H-3', 7'

^{13}C-NMR (62.8 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) (Multi., Zuordnung): 15.859 (Q, C-14); 20.718 (Q, Ac); 21.160 (Q, Ac); 25.799 (Q, C-3",4"); 26.373 (Q, c-13); 26.461 (T, C-3); 30.732 (Q, C-12); 44.206 (T, C-9); 50.338 (S, C-10; 52.187 (D, C-7); 52.482 (S, C-2"); 60.816 (T, C-15); 73.981 (D, C-2); 74.983 (D, C-8); 75.542 (D, C-6); 77.265 (D, C-1); 82.066 (S, C-11); 91.063 (S, C-5); 126.199 (D, C-6",9"); 127.671 (S, C-5"); 128.555 (D, D-4',6'); 128.776 (D, C-3',7'); 129.703 (S, C-2'); 133.400 (D, C-5'); 144.370 (D, C-7",8"); 167.504 (S, -CO-); 169.978 (S, -CO-); 170.494 (S, -CO-); 170.773 (S, -CO-)

14.2 Salacinin B $C_{33}H_{43}O_{13}$ M^+: 679.27203 (*S)

hochaufl. MS: gef. M^+ 679.368 amorph., Smp. 105 - 107°C

DC: R_f = 0.43 (Trennbedingungen siehe Kapitel 11.3 b), S. 85)

UV: λ_{max} (ε): 232 (11 977), 250 (Sch.), 258 (962), 264 (1024), 275 (1086), 283 (1055) nm in EtOH (c = 3.223 x 10^{-5} M)

IR: (cm^{-1}) siehe Tabelle 7, S. 46.

MS (rel.Int.%): 679 (M^+, 3), 563 (2), 548 (5), 530 (2), 416 (5), 399 (2), 294 (2), 234 (2), 217 (2), 206 (11), 166 (11), 164 (14), 146 (11), 138 (9), 131 (5), 106 (100), 105 (46), 79 (5), 77 (11), 57 (2), 55 (2), 44 (3), 43 (16)

^{1}H-NMR (250 MHz, $CDCl_3$)
δ (ppm) (Mult., Zuordnung): 0.94 (m, H-7', 8'); 1.28 (d, H-14); 1.35 (m, H-3'-6'); 1.37 (m, H-3); 1.53 (s,H-12); 1.60 (s, H-13); 1.71 (s,2xMe); 1.89 (m, H-4); 2.21 (t, H-2'); 2.51 (d, H-9); 2.73 (d, H-7); 4.42 (d, H-15^1); 4.44 (t, H-8); 5.01 (t, H-6); 5.05 (d, H-15^2); 5.36 (s, H-1); 5.44 (dd, H-2); 7.26 (m, Py); 7.36 (m, Py); 7.44 (t, Bz); 7.56 (t, Bz); 8.08 (d, Bz)

14.3 Salacinin C $C_{32}H_{37}O_{10}N$ M^+: 595.24175 (MS)

hochaufl. MS: gef. 595.237 Nadel-Kristalle, Smp. 230 - 231°C

DC: R_f = 0.65 (Trennbedingungen, siehe Kapitel 11.3 c), S. 85)

UV: λ_{max} (ε): 229 (7925), 250 (Sch.), 257 (304), 264 (381), 270 (495), 280 (533) nm in EtOH (c = 3.1698 x 10^{-5}M)

IR: (cm^{-1}) 3420, 2960, 1750, 1730, 1600, 1445, 1420, 1360, 1275, 1240, 1210, 1100, 1010, 950, 850, 690

MS (rel.Int.%): 595 (M^+, 45), 580 (2), 474 (2), 291 (1), 290 (1), 275 (1), 233 (2), 230 (2), 219 (2), 202 (2), 190 (2), 177 (2), 172 (3), 135 (2), 124 (5), 122 (2), 106 (27), 105 (100), 83 (14), 78 (8), 77 (10), 57 (2), 55 (3), 44 (2), 43 (18)

^{1}H-NMR (250 MHz,$CDCl_3$)
δ (ppm) (Mult., Zuordnung): 1.25 (d, H-14); 1.56 (s, H-12); 1.63 (s, H-13); 1.84 (s, Ac); 1.87 (m, H-4); 1.60 (m, H-3); 2.35 (s, Ac); 2.40 (d, H-9); 2.52 (d, H-7); 4.60 (d, H-15^1); 5.08 (d, H-15^2); 5.11 (s, H-1); 5.48 (dd, H-8); 5.73 (dd, H-6); 6.78 (dd, H-2); 7.20 (t, Bz); 7.38 (t, Bz); 7.42 (m, Py); 7.76 (d, Bz); 8.41 (dd, Py); 8.82 (d, Py)

14.4 Salacinin T $C_{26}H_{34}O_9$ M^+: 490.22029 (MS)

hochaufl.MS: gef. 490.216 Nadel-Kristalle, Smp. 215 - 216°C

DC: R_f = 0.82 (Trennbedingungen siehe Kapitel 11.3 c), S. 85)

UV: λ_{max} (ε): 227 (11 160), 243 (Sch.), 257 (2 208), 263 (2 327), 271 (1 932) nm in EtOH (c = 3.28067 x 10^{-5}M)

MS (rel.Int.%): 490 (M^+,6), 475 (1), 430 (1), 394 (1), 374 (1), 370 (1), 308 (1), 295 (2), 281 (2), 275 (2), 266 (2), 250 (4), 233 (3), 230 (3), 220 (4), 190 (7), 177 (3), 172 (6), 135 (6), 105 (100), 83 (2), 77 (2), 55 (4), 43 (37)

IR: (cm^{-1}, KBr) 3470, 2955, 2920, 1750, 1725, 1700, 1600, 1580, 1445, 1360, 1330, 1280, 1220, 1220, 1110, 1010, 940, 845, 690

^{1}H-NMR (250 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) (Mult., Zuordnung): 1.19 (d, H-14); 1.51 (s, H-12); 1.59 (s, H-13); 1.60 (m, H-3); 1.90 (s, Ac); 2.06 (m, H-4); 2.20 (s, Ac); 2.25 (d, H-9); 2.52 (d, H-7); 4.33 (d, H-15^1); 4.35 (m, H-2); 4.90 (d, H-15^2); 5.02 (s, H-1); 5.52 (dd, H-6); 6.06 (dd, H-8); 7.41 (t, Bz); 7.55 (t, Bz); 7.88 (d, Bz)

14.5 Pentaacetylsalacinol $C_{25}H_{36}O_{11}$ MG: 512.23

farblose Kristalle: Smp. 59 - 60°C

DC: R_f = 0.87 (0.25 mm Kieselgel GF_{254}, Laufmittelsystem: n-Hexan-Äthylacetat (8:2)

IR: (cm^{-1}, KBr) 3450 (OH), 2960 (-CH-), 1645 (C=O), 1430, 1360, 1130, 1075, 1020, 945, 925, 850

MS (rel.Int.%): 512 (9), 497 (3), 470 (64), 455 (5), 428 (19), 410 (29), 368 (26), 309 (29), 293 (31), 290 (31), 275 (24), 249 (43), 248 (41), 233 (57), 230 (48), 190 (96), 173 (74), 153 (76), 85 (93), 83 (88), 55 (71), 43 (100)

14.6 Salacininsäure-Methylester (aus Hydrolyse von Alkaloidegemisch)

GC: Retentionszeit: 19.0 min (Trennbedingungen siehe 10.6, S.81)

DC: R_f = 0.56 (Kieselgel GF_{254}, Laufmittelsystem: n-Hexan-Äthylacetat (85:15), Detektion: Dragendorff-Reagenz

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1) Th.LOESNER, A.ENGLER und K.PRANTL: "Die natürlichen Pflanzenfamilien", A.Engler Ed., Bd. 2b, 2.Aufl., Verlag von Wilhelm Engelman, Leipzig, 1942, S. 198
2) M.PEYRITSCH: Fl.Bras. XI, 1, 126 (1878)
3) A.C.SMITH: Bull.Torr.Bot.Club, 66, 231 (1939)
4) A.C.SMITH: Brittania III, 3, 469 (1940)
5) DING HOU: "Flora Malesiana", Vol. 6, Walters-Nordhoff Publ., Grouningen, 1962, S. 231
6) N.K.B.RONSON: Private Mitteilung
7) W.B.MORS and C.T.RIZZINI: "Useful Plants of Brazil", Holen-Day Inc., San Francisco, 1966, S. 26
8) H.A.HOPPE: "Drogenkunde", Bd. 1, 8.Aufl., de Gruyter, Berlin, New York, 1975, S. 955
9) R.ZELNIK: Planta Medica, 26, 33 (1974)
10) J.M.WATT and M.G.BREYER-BRANDWIJK: "The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa" E and S Livingston Ltd., Edingburg and London, 1962, S. 501
11) F.HAERDI und J.KERKARO/J.G.ADAM: "Afrikanische Heilpflanzen", Verlag für Rechte und Gesellschaft, Basel, 1964, S. 108
12) R.N.CHOROPRA et al.: "Glossery of Indian Medicinal Plants", Council of Scientific and Industrial Research, New Dehli, 1956, S. 218
13) P.P.PILLAY und A.LEHSHMI: Trivandrum, 5, 29 (1957)
14) N.C.TAWARI and K.N.N.AYRENGAR, S.RANGASWAMI: Curr.Sci., 48, 36 (1971)
15) S.RANGASWAMI and V.KRSHMAN: Tetrahedron Lett., 26, 2441 (1967)
16) R.D. DE G.PAULA: Rev.Flora Med., 2, 397 (1936)
17) B.S.JOSHI et al.: Tetrahedron, 29, 1365 (1973)
18) P.P.PILLAY and A.LEHSHMI: Trivandrum, 5, 47 (1957)
19) W.Y.HUANG: Hua Hsueh Hsueh Pao, 28, 365 (1962)
20) N.C.TAWARI, K.N.N.AYRENGAR and S.RANGASWAMI: Ind.J.Chem., 11, 1334 (1973)
21) D.ROGERS and D.J.WILLIAMS: Tetrahedron Lett., 33, 63 (1974)
22) N.C.TAWARI, K.N.N.AYRENGAR and S.RANGASWAMI: J.C.S.Perkin Trans, 1, 146 (1974)
23) B.S.JOSHI and N.VISWANATHAN: Ind.J.Chem., 12, 894 (1974)
24) B.S.JOSHI, V.N.KAMAT and N.VISWANATHAN: Ind.J.Chem., 13, 87 (1975)
25) S.RANGASWAMI and V.KRISHMAN: Curr.Sci., 36, 596 (1967)
26) V.KRSHMAN and S.RANGASWAMI: Ind.J.Chem., 9, 117 (1971)
27) G.C.S.REDDY, K.N.N.AYRENGAR and S.RANGASWAMI: Ind.J.Chem.Sect. B., 14B, 131 (1976)
28) H.K.DESAI et al.: Ind.J.Chem., 13, 97 (1975)
29) G.DE LIMA, OSWALDO et al.: Rev.Inst.Antibiot.Univ.Fed. Pernambuco Recife, 12, 19 (1972)
30) R.MUNIER und M.MACHENHOENFF: Bull.Soc.Chem.Biol., 33, 846 (1951)
31) G.HUNT und C.RIGBY: Chem.und Ind., 898 (1968)
32) "UV-Atlas", Verlag Chemie, Weinheim, London, Butterworths, 1966
33) H.WAGNER, E.HECKEL und J.SONNENBICHLER: Tetrahedron, 31, 1949 (1975)

34) H.WAGNER, R.BRÜNING, H.LOTTER und A.JONES: Tetrahedron Lett., 36, 125 (1977)
35) H.GÜNTHER: "NMR-Spektroskopie", Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, 1973, S. 113
36) E.G.PAUL and D.M.GRANT: J.Am.Chem.Soc., 85, 1701 (1963)
37) D.M.GRANT and E.G.PAUL: J.Am.Chem.Soc., 96, 2984 (1974)
38) D.K.DALLING and D.M.GRANT: J.Am.Chem.Soc., 96, 1827 (1974)
39) J.B.STOTHERS, I.S.Y.WANG, D.OUCHI and E.WARNHOFF: J.Am.Chem. Soc., 93, 6702 (1971)
40) N.J.BACH, H.E.BOAZ, E.C.CORNFELD, C.J.CHANG, H.G.FOSS, E.W.HAGMAN and E.WENKERT: J.Org.Chem., 39, 1272 (1974)
41) E.BREITMAIER und W.VOELTER: Tetrahedron, 29, 227 (1973)
42) E.BREITMAIER, G.JUNG and W.VOELTER: Chimia, 26, 136 (1972)
43) W.VOELTER, E.BREITMAIER, G.JUNG, T.KELLER und D.HISS: Angew. Chem., 82, 812 (1970)
44) D.E.DORMAN, S.J.ANGYAL and J.D.ROBERTS: J.Am.Chem.Soc., 92, 1351 (1970)
45) J.D.ROBERTS, F.J.WEIGERT, J.I.KROSCHWITZ and H.J.REICH: J.Am.Chem.Soc., 92, 1338 (1970)
46) J.B.GRUTUER, M.JAUTELAT, J.B.DENCE, R.A.SMITH und J.D.ROBERT: J.Am.Chem.Soc., 92, 7107 (1970)
47) R.C.BAXTER, L.CROMBIE, D.J.SIMMONS and D.A.WHITTIG: J.C.S. Chem.Com., 463 (1976)
48) ibid., 465 (1976)
49) R.C.BAXTER, L.CROMBIE, D.J.SIMMONS and D.A.WHITTIG: J.C.S. Perkin I, 1972, 1979
50) H.J. DEN HERTOG and C.K.KRUK: Tetrahedron Lett., 26, 2219 (1974)
51) D.K.DALLING and D.M.GRANT: J.Am.Chem.Soc., 89, 6612 (1967)
52) A.S.PERLIN, B.COAN and H.J.KOCH: Canad.J.Chem., 48, 2599 (1970)
53) D.F.DORMAN und J.D.ROBERT: J.Am.Chem.Soc., 92, 1355 (1970)
54) J.B.STOTHERS: Quat.Rev.Chem.Soc.(London), 19, 44 (1965)
55) H.GÜNTHER: Chem.unserer Zeit, 8, 45 (1974)
56) E.BREITMAIER und G.BAUER: Pharm.unserer Zeit, 5, 113 (1976)
57) E.BREITMAIER und W.VOELTER: "^{13}C-NMR-Spectorscopy", 2.Ed., Verlag Chemie, Weinheim, New York, 1978, S. 296
58) E.BREITMAIER und G.BAUER: "^{13}C-NMR-Spektroskopie", Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, 1977
59) P.CLERC und S.SIMON: "Strukturaufklärung organischer Verbindungen", Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1977, S. H260
60) M.HUDICKY und F.FARES: Chem.listy, 51, 1875 (1957); C.A. 52 - 4627b
61) E.E.MIKHLIMA und M.V.RUBSTOV: Zh.Obschch.Khim, 32, 2177 (1962); C.A. 58 - 9024g
62) J.CEJKA, M.FERIES, S.CHLADEK, J.LABSKY und M.ZELINKA: Collection Czechoslov.Chem.Communs., 26, 1429 (1961); C.A. 55 - 27309d
63) M.S.NEWMAN, A.ARKELL and T.FUKUNAGA: J.Am.Chem.Soc., 82, 2498 (1960)
64) E.GHERA und S.SHOUA: J.Org.Chem., 37, 1292 (1972)
65) W.I.AWAD, A.R.A.RAOUF and A.M.KAMEL: J.Org.Chem., 24, 1777 (1959)

66) HOUBEN-WEYL: "Methoden der Organischen Chemie", Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, 1962, S. 933
67) G.G.TRIGO, E.GALVEZ und M.M.SÖLLHUBER: J.Heterocyclic Chem., 16, 1625 (1979)
68) D.R.BARTON: "Introduction of an α-Functional Carbon Chain", Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, 1979, S. 294
69) C.TAMBORSKI, G.J.MOORE and E.J.SOLOSKI: Chem.and Ind., 696 (1962)
70) H.J.E.LOEWENTHAL and S.SCHATZMILLER: J.C.S.Perkin I, 944 (1976)
71) M.TADA and T.TAKANISHI: Chem.Lett., 275 (1978)
72) S.PATAI: "The Chemistry of carboxylic acid and esters" Inst. Publ., London, New York, Sydney, Toronto, 1969, S. 137
73) H.E.ZIMMERMAN and A.ZWEIG: J.Am.Chem.Soc., 83, 1196 (1961)
74) F.KORTE: "Methodicum Chimicum", Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, 1975, S. 539
75) S.P.BAKSHI and E.E.TURNER: J.Chem.Soc.London, 171 (1961)
76) A.H.BECKETT and R.G.LINGARD: J.Chem.Soc.London, 588 (1961)
77) W.J.BAILY and W.F.HALE: J.Am.Chem.Soc., 81, 651 (1959)
78) O.H.WHEELER: J.Org.Chem., 20, 1672 (1955)
79) L.B.RUBIA and R.GOMEZ: J.Pharm.Sci., 66, 1650 (1977)
80) E.C.ASHBY, J.NOWERS and R.DEPRIEST: Tetrahedron Lett., 21, 3541 (1980)
81) H.SCHLIK und J.L.GELLERMANN: Analytic Chemie, 32, 1412 (1960)
82) TH.J.DE BOER und H.J.BACKER: Rec.trav., 73, 229 (1954)
83) TH.J.DE BOER: Org.Syn., 4, 250 (1963)
84) R.BRÜNING und H.WAGNER: Phytochemistry, 17, 1821 (1978)
85) H.BUDZIKIEWICZ: Z.Ana.Chem., 244, 1 (1969)
86) N.R.FARNSWORTH and K.L.EULER: Lloydia, 25, 186 (1962)
87) R.MARTELLO and N.R.FARNSWORTH: Lloydia, 25, 176 (1962)
88) H.YAMANAKA, M.MIZUGAKI, M.SAGI and K.EDO: Hetrocycles, 12, 1323 (1979)
89) H.CAIS, D.GINSBURG, A.MANDELBAUM und R.M.SMITH: Tetrahedron, 31, 1949 (1975)
90) R.L.BAXTER, L.CROMBIE, D.J.SIMMONDS and D.A.WHITIG: J.C.S. Perkin I, 2965 (1979)
91) S.M.KUPCHAN, R.M.SMITH und R.F.BYRAN: J.Am.Chem.Soc., 92, 6667 (1970)
92) ibid.: J.Org.Chem., 42, 115 (1977)
93) A.WEISZ and A.MANDELBAUM: J.C.S. Chem.Comm., 521 (1978)
94) R.H.F.MANSKE: "The Alkaloid", Vol. 16, Acad.Press, 1977, S. 216
95) R.J.PUGMIRE and P.M.GRANT: J.Am.Chem.Soc., 90, 697 (1968)
96) B.C.BAIRD: Tetrahedron, 35, 289 (1979)
97) H.R.ROGERS, R.J.ROGERS, H.LEE MITSCHELL and G.M.WHITESIDES, J.Am.Chem.Soc., 102, 231 (1980)
98) H.SCHAWER: Nach.Chem.Tech., 28, 159 (1980)
99) H.J.VEITH und M.HESSE: Helv.Chim.Acta, 52, 2004 (1969)
100) Y.SHIZURI, H.WADA und Y.HIRATA: Tetrahedron, 29, 1773 (1973)
101) M.PAILER und W.STREICHER: Monh.Chem., 102, 1873 (1971)
102) H.BEROZA: J.Am.Chem.Soc., 75, 44 (1953)
103) W.OBLENCHO-STEPIEN, H.RZADKOWSKA-BODALSKA, L.NOVOTNY and M.MASOJIDKOVA: Pol.J.Chem., 52, 6661 (1978)
104) A.M.ACHESON und G.A.TAYLOR: J.Chem.Soc., 4140 (1959)
105) G.WEITZEL, F.SCHNEIDER, A.M.FRETZDORFF, J.DURST und W.D. HIRSCHMANN: Hoppe-Seylers Z.Physilog.Chem., 348, 433 (1967)
106) R.BRÜNING: Dissertation Universität München, 1979

L E B E N S L A U F

Ok-Pyo C h i
geboren am 19.1.1949 in Pusan/Korea

Eltern:	Dal-Sam Chi, Apotheker und Sook-Ja Chi geb. Shin
Ausbildung:	
1955 - 1961	Volksschule, Pusan
1961 - 1964	"Kyung-Nam Middle School" Pusan
1964 - 1967	"Kyung-Bok High School" Seoul
1967 - 1971	Sung-Kyun-Kwan Universität, Seoul, Fachbereich Pharmazie, "Bachelor of Science"
Februar 1971	Pharmazeutische Staatsprüfung
1971 - 1973	"Postgraduate School" der Universität S.K.K. "Master of Science"
1971 - März 1977	Angestellter bei der Forschungs- und Entwicklungs-Abteilung der pharmazeutischen Firma Dong-A GmbH.
April 1977 - September 1977	Sprachausbildung am Goethe-Institut, Freiburg/Breisgau
seit Oktober 1977	DAAD-Stipendiat und Doktorand am Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität München unter Anleitung von Herrn Professor Dr. H. Wagner